

**IMOBILISASI ANTIBODY PRIMER MENGGUNAKAN TEKNIK  
ADSORPSI FISIK DAN KOVALEN PADA FABRIKASI *RAPID*  
*SALMONELLA DETECTOR* (PILATOR)**

**SKRIPSI**

Disusun Oleh :

MARIA FLORENCIA PUSPITASARI SCHONHERR  
NIM. 145100501111018

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh  
gelar Sarjana Teknologi Pertanian



**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
2018**

## LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : Imobilisasi Antibody Primer Menggunakan Teknik  
Adsorpsi Fisik dan Kovalen pada Fabrikasi *Rapid  
Salmonella Detector* (PILATOR)

Nama Mahasiswa : Maria Florencia Puspitasari Schonherr

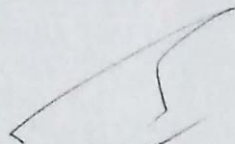
NIM : 145100101111033

Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Teknologi Pertanian

Malang,

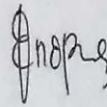
Dosen Penguji I,



Dr. Ir. Elok Zubaidah, MP

NIP. 19590821 199303 2 001

Dosen Penguji II,



Endrika Widyastuti STP, M.Sc, MP

NIP 19850925 201212 2 002

Tanggal Persetujuan: .....

## LEMBAR PENGESAHAN

Judul : Imobilisasi Antibody Primer Menggunakan Teknik  
Adsorpsi Fisik dan Kovalen pada Fabrikasi *Rapid  
Salmonella Detector* (PILATOR)

Nama Mahasiswa : Maria Florencia Puspitasari Schonherr

NIM : 145100101111033

Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Teknologi Pertanian

Malang,

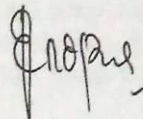
Dosen Penguji I,



Dr. Ir. Elok Zubaidah, MP

NIP. 19590821 199303 2 001

Dosen Penguji II,



Endrika Widyastuti STP, M.Sc, MP

NIP 19850925 201212 2 002

**Ketua Jurusan**

**Jurusan Teknologi Hasil Pertanian**

**Universitas Brawijaya**



Prof. Dr. Teti Estiasih, STP, MP

NIP. 19701226 200212 2 001

**Tanggal Persetujuan:**

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Malang pada 9 April 1996 dari ayah yang bernama Tommy Johanes Schonherr dan ibu yang bernama Susy Indrawati dan merupakan anak kedua dari dua bersaudara. Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SDK Sang Timur Malang pada tahun 2008, kemudian melanjutkan pendidikan di SMPK Sang Timur Malang dan lulus pada tahun 2011 serta menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMAK St. Albertus Malang pada tahun 2014.

Penulis diterima di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Brawijaya pada tahun 2014. Selama masa pendidikannya penulis aktif sebagai asisten Praktikum Fisika Dasar pada tahun 2015, staff Penulisan dan Kompetisi ARSC pada tahun 2016, staff Rumah Tangga KMK pada tahun 2016 serta beberapa kepanitiaan dari tahun 2014-2016. Penulis menyelesaikan praktek kerja lapang di laboratorium mikrobiologi PT. Sucofindo, Surabaya pada tahun 2017. Penulis juga pernah menjadi presenter dalam *The 2<sup>nd</sup> International Conference on Food, Agriculture and Natural Resources* di Malang, Indonesia dan presenter pada START (*Study Tour Abroad for Realization and Transformation*) yang diadakan sebagai kolaborasi antara Universitas Brawijaya dan Universitas Hiroshima, Jepang. Penulis memiliki beberapa pengalaman dalam bidang penulisan ilmiah dengan mengikuti Program Kreativitas Mahasiswa dalam bidang Penerapan Teknologi dan Karsa Cipta dimana pada kedua bidang tersebut penulis mendapatkan pendanaan Kemenristekdikti dan berkesempatan untuk memperoleh medali perunggu bidang PKM Karsa Cipta dalam Pekan Mahasiswa Nasional XXX.



## PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini :

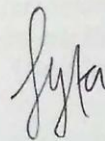
Nama Mahasiswa : Maria Florencia Puspitasari Schonherr  
NIM : 145100501111018  
Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian  
Fakultas : Teknologi Pertanian  
Judul : Imobilisasi Antibody Primer Menggunakan Teknik  
Adsorpsi Fisik dan Kovalen pada Fabrikasi *Rapid*  
*Salmonella Detector* (PILATOR)

Menyatakan bahwa,

Tugas akhir dengan judul diatas merupakan karya asli penulis tersebut diatas.  
Apabila dikemudian hari terbukti pernyataan ini tidak benar, saya bersedia  
dituntut sesuai hukum yang berlaku.

Malang, 10 Januari 2018

Pembuat Pernyataan



**Maria Florencia Puspitasari Schonherr**

**NIM. 145100501111018**

## RINGKASAN

Pangan merupakan kebutuhan dasar manusia. Salah satu hal penting yang perlu diperhatikan dalam konsumsi pangan adalah terjaganya keamanan pangan sebagai upaya menghindari penyakit. Penyakit yang disebabkan oleh konsumsi pangan disebut dengan *foodborne disease*. *Salmonella* merupakan patogen yang sering diasosiasikan dengan kasus keracunan makanan. Namun, metode pendeteksian *Salmonella* pada bahan pangan secara umum masih memerlukan waktu yang relatif lama dan tahapan pengujian yang rumit.

PILATOR (*Rapid Salmonella Detector*) yang menggunakan prinsip biosensor dapat dijadikan alternatif pendeteksian *Salmonella* pada bahan pangan secara cepat dan praktis. Tahapan imobilisasi antibodi merupakan salah satu indikator penentu performansi suatu biosensor. Oleh karena itu, perlu dilakukannya pengujian imobilisasi antibodi primer pada pembuatan PILATOR untuk mengetahui performansinya. Tujuan dari program ini adalah mengetahui desain PILATOR untuk mendeteksi keberadaan *Salmonella* pada bahan pangan serta untuk mengetahui performansi PILATOR dari segi imobilisasi antibodi primer menggunakan teknik adsorpsi fisik dan kovalen. Metode perancangan PILATOR dimulai dari studi pustaka, desain prototype, fabrikasi, hingga pengujian imobilisasi antibodi primer.

PILATOR didesain dengan dimensi 14 x 1,4 x 0,8 cm dengan menggunakan kertas uji berupa kertas Whatmann #1. PILATOR memiliki 3 zona yaitu zona sampel, zona reaksi dan zona hasil. Hasil pengujian imobilisasi antibodi primer dengan menggunakan teknik adsorpsi fisik, adsorpsi fisik modifikasi permukaan (CMC 2% dan Na-Alginat 2%) dan teknik kovalen (gluteraldehid 2%) menunjukkan imobilisasi menggunakan teknik kovalen (gluteraldehid 2%) menunjukkan hasil paling baik dengan nilai rata-rata RBG sebesar  $215,31 \pm 1,39$ . Sementara itu, pengujian imobilisasi antibodi primer menggunakan berbagai konsentrasi gluteraldehid (2%, 3%, 4%, 5% dan 6%) menunjukkan imobilisasi menggunakan gluteraldehid dengan konsentrasi 5% memiliki hasil yang paling baik dengan nilai rata-rata RBG sebesar  $208,65 \pm 0,38$ .

**Kata Kunci:** Biosensor, Pangan, *Salmonella*, Teknik Imobilisasi

## SUMMARY

Food is basic needs of human life. One of the important factor that is need to be considered in food consumption is to ensure food safety in order to avoid the occurrence of the disease. Disease that occurred through food consumption referred as food-borne disease. *Salmonella* is pathogen that often associated with food-borne disease. However, *Salmonella* detection methods in foods still require a long time analysis and difficult testing procedures.

PILATOR (Rapid *Salmonella* Detector), which using biosensor principle, can be used as an alternative detection method of *Salmonella* in foods that are rapid and practical. Antibody immobilization step is one of the indicator performances of biosensor. Therefore, primary antibody immobilization test is needed in PILATOR fabrication to determine its performance. Aim of this program is to know the design of PILATOR to detect the presence of *Salmonella* in foods and to find out PILATOR performance based on primary antibody immobilization using physical adsorption and covalent techniques. Design methods of PILATOR are started from literature review, prototype design, fabrication, until primary antibody immobilization test.

PILATOR is designed with 14 x 1.4 x 0.8 cm dimension using Whatmann #1 paper as testing paper. PILATOR are consist of 3 zones: Sample zone, reaction zone and result zone. Primary antibody immobilization test using physical adsorption, surface modification-physical adsorption (CMC 2% and Na-Alginate 2%) and covalent technique (glutaraldehyde 2%) showed that primary antibody immobilization using covalent technique produced the best result with an average RGB value  $215.31 \pm 1.39$ . Meanwhile, Primary antibody immobilization test using different concentrations of glutaraldehyde (2%, 3%, 4%, 5% and 6%) showed that primary antibody immobilization using 5% glutaraldehyde generated the best result with an average RGB value  $208.65 \pm 0.38$ .

**Keywords:** Biosensor, Food, Immobilization Techniques, *Salmonella*

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan berkat-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul *Imobilisasi Antibody Primer Menggunakan Teknik Adsorpsi Fisik dan Kovalen pada Fabrikasi Rapid Salmonella Detector (Pilator)*. Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Elok Zubaidah, MP dan Endrika Widyastuti, S.Pt., M.Sc., MP, selaku dosen pembimbing yang membimbing, mengarahkan dan memberi dukungan moral sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
2. KEMENRISTEKDIKTI atas dana hibah yang dipergunakan sebagai dana pada penelitian skripsi ini.
3. Kedua orang tua dan keluarga yang telah memberikan doa, dukungan dan bantuan dalam segala bentuk sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Sahabat-Sahabat Best of Life (Fibe, Firda, dan Dea) yang telah membantu dalam bentuk doa, bantuan dalam pengerjaan beberapa hal yang tidak dapat penulis kerjakan sendiri serta motivasi untuk terus berjuang dimasa-masa yang sulit dan berat.
5. Sahabat-Sahabat 4XE (Yosi, Kevin dan Feli) yang selalu membuat hiburan di grup line maupun di dunia nyata dengan obrolan yang random, dan jalan-jalan ke Tunjungan Plaza berkali-kali hanya untuk berjalan-jalan random.
6. Sahabat SMA (Vina) yang terus membantu dalam banyak hal ditengah kesibukannya mengejar 2 gelar.
7. Teman-teman fangirl twitter (Ima, Medina) dengan segala tweetnya yang terus menghibur selama penulis melarikan diri ke dunia maya.
8. Ani Masrurroh, Rika Anisa Anggraeni, Sri Mursidah dan Yunita Khilyatun Nisak selaku patner tim PILATOR yang telah berkerja bersama-sama untuk menyelesaikan pembuatan dan pengujian PILATOR.
9. Teman-teman THP 2014.
10. Adik-Adik arginin: Caca, Sasri, Della, Rima, Nadifa, Lusio, Nindy, Shofie, Raisa, Kukuh, Kiki dan Irma.
11. Para aktor kdrama (SJK, LWG, NGM, dan SJS) serta Dong Bang Shin Ki OT5 (U-Know, Xia, Max, Hero dan Micky) yang telah memberikan hiburan bagi penulis saat berada pada masa kebosanan dengan semua pekerjaan yang harus dikerjakan.
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis sadar bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, maka dengan kerendahan hati, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Malang, Januari 2018

Penulis



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERSETUJUAN .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
RIWAYAT HIDUP .....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR .....	v
RINGKASAN .....	vi
SUMMARY .....	vii
KATA PENGANTAR .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Program .....	2
1.4 Luaran yang Diharapkan .....	2
1.5 Kegunaan Program .....	2
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
2.1 <i>Salmonella</i> .....	4
2.2 Metode Pendeteksian <i>Salmonella</i> Terdahulu .....	5
2.3 Kolorimetri Biosensor Berbasis Immunosensor .....	6
2.4 Antibodi .....	7
2.5 Teknik Imobilisasi .....	8
2.6 Imobilisasi Antibodi pada Biosensor Pendeteksi Patogen.....	10
2.7 Enzim Alkaline Phospatase .....	11
2.8 Pewarna NBT-BCIP .....	11
2.9 Gluteraldehid.....	12
2.10 CMC ( <i>Carboxymethyl Cellulose</i> ) .....	12
2.11 Alginat .....	13
2.12 Kertas Saring Whatmann #1 .....	13
2.13 BSA ( <i>Bovine Serum Albumin</i> ).....	14
2.14 <i>Phospate Buffered Saline</i> .....	15

<b>BAB III DESAIN TEKNOLOGI .....</b>	<b>16</b>
3.1 Tempat dan Pelaksanaan Program .....	16
3.2 Alat dan Bahan.....	16
3.3 Metode Perancangan .....	16
3.4 Mekanisme Kerja PILATOR .....	20
3.5 Rencana Implementasi.....	21
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>22</b>
4.1 Desain PILATOR.....	22
4.2 Prinsip Kerja PILATOR.....	23
4.3 Pengujian PILATOR .....	24
4.4 Implementasi PILATOR.....	29
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>33</b>
5.1 Kesimpulan .....	33
5.2 Saran .....	33
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>34</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>45</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Pendeteksian <i>Salmonella</i> pada Produk Pangan di Indonesia.....	6
Tabel 2.2 Imobilisasi Antibodi pada Biosensor Pendeteksi <i>Food Pathogen</i> ..	10
Tabel 2.3 Spesifikasi Kertas Saring Whatmann #1 .....	14
Tabel 4.3 Perbandingan PILATOR dengan Biosensor <i>Salmonella</i> Komerisal.....	31

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Antibodi.....	7
Gambar 2.2 Orientasi Imobilisasi Antibodi .....	7
Gambar 2.3 Mekanisme Reaksi NBT-BCIP dengan Enzim Akaline Phospatase .....	11
Gambar 2.4 Struktur <i>CarboxyMethyl Cellulose</i> .....	13
Gambar 3.1 Diagram Alir Perancangan PILATOR .....	17
Gambar 3.2 Desain Visual PILATOR .....	18
Gambar 3.3 Fabrikasi PILATOR .....	19
Gambar 3.3 Mekanisme Kerja PILATOR .....	20
Gambar 4.1 Desain dan Spesifikasi PILATOR .....	22
Gambar 4.2 Kemasan PILATOR.....	23
Gambar 4.3 Prinsip Kerja PILATOR.....	23
Gambar 4.4 Hasil Pengujian Teknik Imobilisasi .....	24
Gambar 4.5 Hasil Pengujian Imobilisasi Antibodi Primer Teknik Kovalen dengan Berbagai Konsentrasi Gluteraldehid.....	27
Gambar 4.6 Biosensor <i>Salmonella</i> .....	30

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Prosedur Penggunaan PILATOR .....	45
Lampiran 2 Diagram Alir Persiapan Reagen .....	46
Lampiran 3 Hasil Pengujian Imobilisasi Antibodi Primer.....	48
Lampiran 4 Surat Pendaftaran Paten PILATOR.....	54
Lampiran 5 Keikutsertaan dalam Lokakarya .....	55
Lampiran 6 Perhitungan Biaya Pembuatan PILATOR.....	56
Lampiran 7 Publikasi Ilmiah PILATOR .....	58
Lampiran 8 Publikasi Media PILATOR.....	59
Lampiran 9 Keikutsertaan dalam Expo .....	62
Lampiran 10 Dokumentasi Kegiatan .....	64

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Pangan merupakan kebutuhan dasar semua makhluk hidup termasuk manusia. Salah satu hal penting yang perlu diperhatikan dalam konsumsi pangan adalah terjaganya keamanan pangan sebagai upaya menghindari terjadinya penyakit. Penyakit yang disebabkan oleh konsumsi pangan disebut dengan *foodborne disease* (NCDC, 2009). *Salmonella* merupakan bakteri patogen yang sering diasosiasikan dengan kasus keracunan makanan (Teunis *et al*, 2010). Terdapat 16 juta kasus demam tifoid serta 1,3 miliar kasus *gastroenteritis* dan 3 juta kasus kematian akibat *Salmonella* setiap tahunnya diseluruh dunia (Bhunia, 2008) dimana lebih dari 44% kasus *Salmonellosis* tersebut disebabkan oleh konsumsi pangan hewani yang telah terkontaminasi (CDC, 2001). Menurut Pires (2010) penyebab utama dari *Salmonellosis* adalah konsumsi telur (32%) dan konsumsi daging (15%). Konsumsi produk pangan hewani di Indonesia sendiri terus mengalami peningkatan. Santoso (2016) melaporkan bahwa konsumsi produk hewani pada tahun 2009 hingga 2012 mengalami peningkatan sebesar 18,6%. Tingginya konsumsi produk pangan hewani tersebut tentu meningkatkan resiko *Salmonellosis* jika tidak diimbangi dengan metode pendeteksian keberadaan *Salmonella* yang memadai.

Pendeteksian *Salmonella* menggunakan metode pengujian mikrobiologi dilakukan dengan mengisolasi bakteri pada media selektif dan melakukan serangkaian uji tambahan yang memerlukan waktu selama 5-7 hari untuk melakukan analisis (Notoatmodjo, 2002; Naravaneni and Jamil, 2005). Metode lain yang umum digunakan dalam pendeteksian keberadaan *Salmonella* adalah dengan menggunakan metode PCR yang merupakan metode perbanyakan DNA secara enzimatik dengan memanfaatkan perubahan suhu (Sambrook *et al*, 1989) serta membutuhkan elektroforesis agarose dalam visualisasi hasil pengujiannya (Tarigan, 2011). Metode PCR ini membutuhkan waktu pengujian selama 48 jam untuk pengkayaan sampel dan 2 jam untuk pengujian (Amalia, 2013). Kedua metode yang umum digunakan tersebut memerlukan waktu yang relatif lama dan tahapan pengujian yang rumit. Oleh karena itu, PILATOR (*Rapid Salmonella Detector*) yang menggunakan prinsip biosensor dapat dijadikan salah satu alternatif pendeteksian *Salmonella* pada bahan pangan secara cepat dan praktis.



Biosensor merupakan alat pendeteksi yang menggabungkan 2 komponen penting yaitu komponen biologis sebagai agen pendeteksi seperti antibodi, enzim, maupun DNA dan komponen transduser (Koyun *et al*, 2012). Biosensor kolorimetri merupakan jenis biosensor yang paling mudah digunakan menghabiskan sedikit biaya karena menggunakan prinsip perubahan warna yang dapat diamati secara langsung (Velusamy, 2010). Biosensor berbasis kertas menjadi terobosan terbaru dalam pendeteksian yang cepat, praktis dan murah (Cao, 2015). Komponen yang sering digunakan sebagai agen pendeteksi adalah antibodi karena memiliki spesifisitas yang tinggi dalam mengenali antigen pasangannya (Byrne, 2009). Imobilisasi komponen biologis menjadi salah satu tahapan yang paling berpengaruh dalam pembuatan biosensor yang baik dengan berpengaruh langsung pada sensitivitas, stabilitas dan selektivitasnya (Roy and Abraham, 2004; Cao, 2015; Es *et al*, 2015). Beberapa metode imobilisasi yang sering digunakan dalam pembuatan biosensor seperti metode adsorpsi, ikatan silang, *entrapment*, ikatan kovalen dan mikroenkapsulasi (Koyun *et al*, 2012). Pada program ini akan digunakan agen imobilisasi berupa glutaraldehid, Na-alginat dan CMC. Glutaraldehid merupakan senyawa aldehida yang stabil, memiliki reaktivitas yang baik, dapat bereaksi dengan cepat dengan gugus amina pada protein dan memiliki biaya yang murah sehingga sering digunakan sebagai agen imobilisasi (Nimni *et al*, 1987; Okuda *et al*, 1991; Migneault *et al*, 2004). CMC merupakan senyawa turunan selulosa yang digunakan dalam imobilisasi biomolekul dengan cara dilapiskan pada kertas selulosa. Alginat merupakan senyawa yang memiliki sejumlah besar gugus karboksil pada *backbone* polimernya dan memiliki sifat hidrofobik untuk membuat ikatan non kovalen yang dapat dimanfaatkan untuk imobilisasi biomolekul (Wang *et al*, 2002; Cao, 2015). CMC dapat berikatan kuat dengan selulosa, dan menyediakan gugus hidroksil tambahan pada selulosa tanpa merusak ikatan intramolekul pada selulosa (Olerma *et al*, 2011; Olerma *et al*, 2012).

Pada Program ini akan didesain alat pendeteksi *Salmonella* berbasis kolorimetri biosensor (PILATOR). PILATOR didesain khusus dengan mengkombinasikan enzim, antibodi, dan agen imobilisasi pada platform kertas sebagai inovasi pendeteksian keberadaan *Salmonella* pada bahan pangan secara cepat, praktis dan akurat. Diharapkan melalui pembuatan teknologi ini, upaya peningkatan keamanan pangan di Indonesia dapat dilaksanakan.

## **1.2 Perumusan Masalah**

1. Bagaimana desain teknologi PILATOR untuk mendeteksi keberadaan *Salmonella* pada bahan pangan?
2. Bagaimana performansi dari teknologi PILATOR ditinjau dari segi imobilisasi antibodi primer menggunakan teknik adsorpsi fisik dan kovalen?

## **1.3 Tujuan Program**

1. Mengetahui desain teknologi PILATOR untuk mendeteksi keberadaan *Salmonella* pada bahan pangan
2. Mengetahui performansi dari teknologi PILATOR ditinjau dari segi imobilisasi antibodi primer menggunakan teknik adsorpsi fisik dan kovalen

## **1.4 Luaran yang Diharapkan**

Luaran yang diharapkan dari program ini adalah terciptanya teknologi PILATOR sebagai alternatif pendeteksian *Salmonella* pada bahan pangan yang cepat, praktis dan akurat.

## **1.5 Kegunaan Program**

Kegunaan dari program ini adalah terciptanya Teknologi PILATOR sebagai inovasi pendeteksian *Salmonella* pada bahan pangan di Indonesia. Teknologi PILATOR diharapkan mampu membantu masyarakat dan badan keamanan pangan dalam upaya pencegahan penyebaran keracunan pangan yang disebabkan oleh keberadaan bakteri *Salmonella*. Selain itu, teknologi PILATOR juga diharapkan mampu membantu industri pangan untuk melakukan sortasi bahan baku dan pengujian mutu produk akhir yang akan dipasarkan di masyarakat.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 *Salmonella*

*Salmonella* merupakan bakteri gram negatif yang bersifat aerob fakultatif dan berbentuk batang dengan ukuran berkisar antara  $2-3 \times 0,4-0,6 \mu\text{m}$  (Yousef dan Carlstrom, 2003). Berdasarkan penamaan nomenklatur dari CDC, *Salmonella* dibagi dalam 2 jenis genus yaitu *Salmonella enterica* dan *Salmonella bongori*. *Salmonella enterica* kemudian dibagi kembali menjadi 6 subspecies yang berbeda yaitu *S. enterica* subsp. Enterica, *S. enterica* subsp. Salamae, *S. enterica* subsp. Arizonae, *S. enterica* subsp. Diarizonae, *S. enterica* subsp. Houtenae, *S. enterica* subsp. Indica (Brenner *et al*, 2000). *Salmonella enterica* memiliki lebih dari 2600 jenis serovar dengan sebanyak lebih dari 1500 serovar tergolong dalam *S. enterica* subsp Enterica yang diketahui menjadi penyebab 99% infeksi *Salmonella* pada manusia (Shormer *et al*, 2016). Homologi sequens DNA antar serovar *Salmonella enterica* adalah sebesar 96-99% (Edward *et al*, 2002). *Salmonella* memiliki kondisi pertumbuhan pada rentang suhu  $5-47^{\circ}\text{C}$  dengan suhu optimum  $35-37^{\circ}\text{C}$  (Gray and Fedorka-Clay, 2002), rentang pH 4-9 dengan pH optimum 6,5-7,5 dan aw 0,94 hingga 0,99 meski juga dapat tumbuh pada  $\text{aw} < 0,2$  pada makanan kering (Hanes, 2003; Bhunia, 2008). *Salmonella* memiliki 3 jenis antigen yaitu antigen O, antigen H dan antigen vi. Antigen O merupakan polisakarida luar dari semua dinding sel yang membagi *Salmonella* menjadi kelompok A-I. Antigen H atau disebut juga antigen flagelar memiliki 2 fasa yaitu fasa 1 dan fasa 2 yang hanya salah satu dari kedua fasa tersebut yang akan disintesis dalam satu waktu bergantung pada urutan gen pada transkripsi mRNA. Antigen Vi (polisakarida kapsul) adalah merupakan antigen yang berperan dalam menentukan faktor virulensi *S.typhi*, suatu agen penyebab demam tifoid (Levinson, 2008).

*Salmonella* dilaporkan menjadi salah satu penyebab berbagai kasus keracunan makanan diseluruh dunia (Todd, 1997; Galanis *et al*, 2006; Teunis *et al*, 2010). Terdapat 2 jenis *Salmonellosis* atau keracunan *Salmonella* yang terjadi pada manusia yaitu tipe tifoid dan non tifoid (Portillo, 2000). Kasus demam tifoid dilaporkan sebanyak 16 juta kasus dengan kematian sebanyak 600.000 kasus dan kasus non tifoid yaitu gastroenteritis dilaporkan sebanyak 1,3 miliar dengan kematian sebesar 13 juta kasus (Portillo, 2000; Pui *et al*, 2011). Di indonesia

sendiri, berdasarkan hasil studi epidemiologi dan survey, angka morbiditas akibat *Salmonellosis* adalah sebesar 358/100.000 penduduk di daerah semi pedesaan dan meningkat menjadi 810/100.000 penduduk pada daerah perkotaan (Suwandono dan Destri, 2005). *Salmonella enteritidis* dan *Salmonella thypimurium* merupakan serovar yang mendominasi transmisi dari hewan ke manusia (Public Health England, 2015), kedua jenis *Salmonella* ini diketahui memiliki rentang inang yang luas yaitu manusia, rodensia dan unggas (McCelland *et al*, 2001; Parkhill *et al*, 2001) dimana serovar thypimurium lebih cenderung ditemukan pada daging sementara serovar enteritidis lebih cenderung ditemukan pada telur (Keller, 1997; Guard-Potter, 2001). Sebanyak lebih dari 44% keracunan *Salmonella* diakibatkan konsumsi produk hewani (CDC, 2001), akan tetapi tidak menutup kemungkinan terjadinya keracunan akibat konsumsi sayuran dan buah seperti apel, mangga, tomat, kubis dan sebagainya (Pui *et al*, 2011). Dosis infeksi dari *Salmonella* bervariasi dari 1 hingga  $10^9$  CFU/g (Yousef dan Carlstrom, 2003).

## **2.2 Metode Pendeteksian Salmonella Terdahulu**

Metode pendeteksian keberadaan *Salmonella* pada produk pangan di Indonesia yang telah dilakukan selama ini memiliki beberapa alternatif metode seperti yang dapat dilihat pada **Tabel 2.1**

**Tabel 2.1** Pendeteksian *Salmonella* pada Produk Pangan di Indonesia

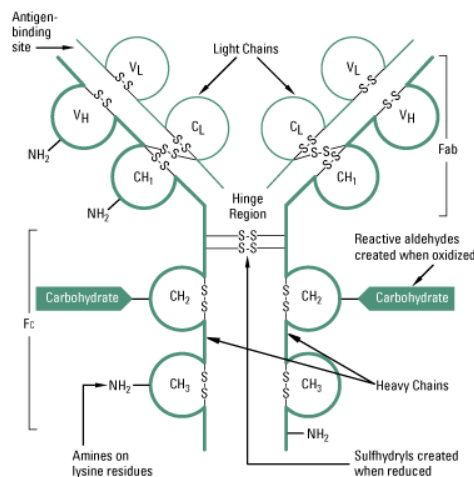
Jenis Pendeteksian	Keterangan	Sumber
Metode Pengujian Mikrobiologi	-Memerlukan serangkaian pengujian menggunakan berbagai macam media - Memerlukan keahlian Khusus - Waktu pengujian mencapai 5-7 Hari	Naravaneni and Jamil, 2005; Notoatmodjo, 2002
PCR	-Memerlukan keahlian khusus - Waktu pengujian mencapai 48 jam untuk pengkayaan dan 2 jam untuk pengujian	Targian, 2011; Amalia, 2013
ELISA	-Memerlukan keahlian khusus - Waktu pengujian mencapai 27-33 jam	FDA, 1998
Vitex immunodiagnostic assay system easy salmonella (VIDAS ELISM)	-Memerlukan keahlian khusus - Harga alat mahal - Waktu pengujian mencapai 27-33 jam -Tidak portable	Jasson <i>et al</i> , 2011
Rapid Check® Select™ <i>Salmonella</i>	- Harga alat mahal - Merupakan produk impor -Waktu pendeteksian 10-20 menit setelah penetesan sampel (dengan waktu total deteksi 22-30 jam terhitung dari inkubasi sampel hingga hasil keluar)	Romer Lab, 2017
Singlepath® <i>Salmonella</i>	-Umur alat 18 bulan pada suhu ruang - Harga Mahal -Produk impor -Waktu pendeteksian 20 menit setelah penetesan sampel (dengan waktu total deteksi 42-47 jam terhitung dari inkubasi sampel hingga hasil keluar) -Sensitivitas tinggi	Merck, 2017

### 2.3 Kolorimetri Biosensor Berbasis Immunosensor

Biosensor merupakan alat pendeteksi yang menggabungkan 2 komponen penting yaitu komponen biologis sebagai agen pendeteksi seperti antibodi, enzim, maupun DNA dan komponen transduser yang akan mengubah sinyal analit dengan bioreseptor menjadi sinyal elektrik yang dapat dibaca (Koyun *et al*, 2012). Berdasarkan transduksi sinyal yang dihasilkannya, biosensor biasa dikategorikan menjadi biosensor *optical*, *electrochemical*, *mass-based* dan kolorimetri (Velusamy, 2010). Biosensor kolorimetri merupakan jenis biosensor yang paling mudah digunakan dan menghabiskan sedikit biaya karena menggunakan prinsip perubahan warna yang dapat diamati secara langsung (Jose *et al*, 2007 dan Vilabolos *et al*, 2012). Immunosensor merupakan jenis biosensor yang menggunakan antibodi sebagai bioreseptor untuk mendeteksi keberadaan antigen (North, 1985).

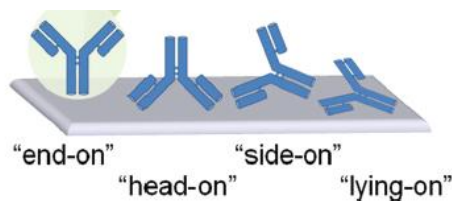
## 2.4 Antibodi

Antibodi merupakan sebuah biopolimer yang memiliki berat molekul 150 Kda dengan dimensi 14 x 10 x 4 nm (Lu *et al*, 1996; Crivianu-Gaita and Thompson, 2015) yang terdiri atas sekuen asam amino yang jumlah dan urutannya akan berpengaruh pada struktur 3D yang dimilikinya (Menti *et al*, 2016). Antibodi terdiri atas 2 *fragment antigen binding* (Fab) *region* dan sebuah *fragment crystallizable region* (Fc). Fab yang dihubungkan dengan *hinge region* disebut sebagai F(ab')<sub>2</sub> *fragment* (Chen *et al*, 2014). Struktur antibodi dapat dilihat seperti pada **gambar 2.1**.



**Gambar 2.1.** Struktur Antibodi (Thermo Fisher Scientific, 2017)

Imobilisasi antibodi yang ideal adalah Fc region berada pada posisi '*end on*'. Namun, pada imobilisasi secara random, selain posisi '*end on*', antibodi dapat memiliki beberapa orientasi seperti '*head on*'; '*site on*' dan '*lying on*' (Chen *et al*, 2014) seperti yang dapat dilihat pada **gambar 2.2**



**Gambar 2.2** Orientasi Imobilisasi Antibodi (Chen *et al*, 2014)

Secara umum, asam amino hidrofobik pada antibodi akan terinternalisasi pada struktur protein yang melipat sehingga meninggalkan residu hidrofilik pada permukaan antibodi dengan beberapa gugus fungsional reaktif seperti gugus



amin, karboksil dan hidroksil. Disulfida pada *hinge region* dapat direduksi untuk membuat gugus fungsional thiol (Trilling *et al*, 2013; Trilling *et al*, 2014; Hui *et al*, 2015). Beberapa metode imobilisasi yang dapat dilakukan pada antibodi diantaranya adalah metode adsorpsi fisik dengan atau tanpa modifikasi permukaan, metode ikatan kovalen dan metode afinitas (Welch *et al*, 2017).

Jenis antibodi dapat dibedakan menjadi antibodi monoklonal dan poliklonal. Antibodi monoklonal adalah antibodi yang memiliki kemampuan yang spesifik dengan hanya mampu mengenali satu jenis antigen saja. Keuntungan dari antibodi monoklonal adalah spesifik pada satu jenis antigen, mampu menurunkan *background*, serta memiliki homogenitas yang tinggi, akan tetapi kekurangannya adalah dapat terlalu spesifik sehingga tidak mampu mendeteksi diluar spesiesnya, dan lebih mudah rusak oleh modifikasi kimia dibandingkan dengan antibodi poliklonal (Abcam, 2017). Antibodi poliklonal adalah antibodi yang mampu mendeteksi beberapa jenis epitop antigen sekaligus, memiliki afinitas yang tinggi, serta lebih toleran terhadap modifikasi kimia. Kelemahan antibodi poliklonal diantaranya adalah rentan mengalami variasi dari percobaan satu ke percobaan berikutnya, dapat terjadi reaksi silang, dan tidak dapat digunakan untuk mengenali spesifik domain karena kemampuannya mengenali beberapa epitope antigen sekaligus (Abcam, 2017).

Pendeteksian menggunakan antibodi bergantung pada interaksi antara antibodi dengan antigen target. Antibodi yang diproduksi untuk mengenali target disebut sebagai antibodi primer (1° Ab) karena mereka akan berikatan secara langsung dengan antigen target. Antibodi sekunder adalah antibodi yang memiliki target antigen berupa antibodi lainnya dan biasanya diberi tag untuk menghasilkan sinyal tampak sebagai hasil pengujian (Thermo Scientific, 2007).

## **2.5 Teknik Imobilisasi**

### **2.5.1 Adsorpsi Fisik**

Metode adsorpsi fisik merupakan metode imobilisasi yang paling sederhana dan murah (Shankaran and Norio, 2007). Metode adsorpsi fisik didasarkan pada ikatan non kovalen seperti ikatan van der Waals, ikatan hidrogen, dan interaksi hidrofobik (Shiver-Lake, 1998; Shankaran and Norio, 2007). Imobilisasi dengan cara ini dilakukan tanpa perlu melakukan modifikasi kimia pada komponen biologis yang ingin di imobilisasi (Shankaran and Norio, 2007). Antibodi yang terimobilisasi dengan cara adsorpsi memiliki orientasi

random, kemungkinan inaktivasi saat berikatan dengan ion logam dan stabilitas yang relatif rendah (Shiver-Lake, 1998; Shankaran and Norio, 2007). Kelemahan dari metode adsorpsi fisik ini adalah antibodi tidak akan terikat kuat pada platform dan dapat hilang dengan proses pencucian (Credou *et al*, 2013).

### **2.5.2 Entrapment**

Imobilisasi metode entrapment merupakan metode imobilisasi yang melibatkan material polimer. Biomolekul akan dicampur dengan reaktan, kemudian akan terjadi polimerisasi dimana biomolekul akan terperangkap di dalam matrik polimer (Ortega *et al*, 1998; Sunil *et al*, 2001). Polimer hidrofilik seperti PEG, dextran, dan polivinil alkohol) serta polimer hidrofobik seperti (membran nitroselulosa, dan poliakrilamida) sering digunakan dalam imobilisasi suatu biomolekul (Masson *et al*, 2004). Metode ini memiliki keunggulan seperti melindungi biomolekul dari inaktivasi proteolitik, memperbaiki kestabilan thermal dan meningkatkan kemungkinan pemakaian berulang (Ortega *et al*, 1998; Sunil *et al*, 2001). Akan tetapi, metode ini juga memiliki beberapa kelemahan seperti adanya kemungkinan struktur polimer akan mengurangi atau menghalangi difusi analit yang berukuran besar, ada kemungkinan terjadi leaching dari biomolekul, dan kondisi polimerisasi yang dapat merusak biomolekul yang hendak diimobilisasi (Shiver-Lake, 1998).

### **2.5.3 Modifikasi Kovalen**

Metode modifikasi kovalen merupakan metode imobilisasi yang dapat menghasilkan permukaan bioaktif yang paling stabil dan seragam (Shiver-Lake, 1998). Pada permukaan padat, untuk dapat mengikat biomolekul secara kovalen maka dibutuhkan gugus fungsional pada keduanya. Platform padat atau biomolekul dapat diubah menjadi senyawa turunannya dengan penggunaan homo atau hetero *biofunctional chemical linker* (Shiver-Lake, 1998). Homo biofunctional linker mengandung 2 gugus fungsi yang sama sementara hetero biofunctional linker mengandung 2 gugus fungsi yang berbeda (Shiver-Lake, 1998). Salah satu contoh homo *biofunctional linker* adalah glutaraldehid dengan 2 gugus aldehid yang reaktif terhadap gugus amina primer (Shiver-Lake, 1998). Selain gugus amina primer, gugus seperti sulhidril, karbonil, asam karboksilat dan karbohidrat dari biomolekul dapat dimanfaatkan untuk kepentingan

imobilisasi (Lu *et al*, 1996). Pada kertas selulosa, grup fungsional yang tersedia adalah grup hidroksil *backbone* dan ujung reduksi cincin selulosa. Gugus fungsi yang tersedia tersebut kurang begitu reaktif sehingga harus dilakukan modifikasi kimiawi untuk meningkatkan gugus reaktif yang tersedia (Credou dan Berthelot, 2014). Berbagai usaha dilakukan dalam memodifikasi gugus reaktif secara kimiawi seperti oksidasi, esterifikasi, peningkatan gugus hidrofobik atau menggunakan bioafinitas dari biomolekul (Bodelon *et al*, 2004; Chaabouni *et al*, 2008, Isaad and Alkari, 2011; Geissler *et al*, 2014).

## 2.6 Imobilisasi Antibodi Pada Biosensor Pendeteksi Patogen

Beberapa contoh teknik imobilisasi yang telah digunakan dalam imobilisasi antibodi untuk biosensor pendeteksian bakteri patogen pangan dapat dilihat pada **tabel 2.2**.

**Tabel 2.2** Imobilisasi Antibodi pada Biosensor Pendeteksi *Food Pathogen*

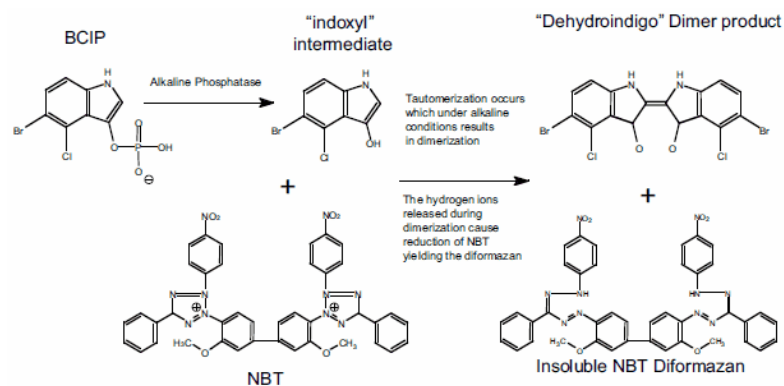
No	<i>Food Pathogen</i> yang dideteksi	Imobilisasi Antibodi	Sensitivitas	Sumber
1	<i>M. tuberculosis</i>	<i>Streptavidin-Biotin crosslinking</i>	1 ng/mL	Gonzales <i>et al</i> , 2005
2	<i>E. coli</i> O157:H7	EDC/NHS <i>crosslinking</i>	2 CFU/mL	Barrieros <i>et al</i> , 2013
3	<i>E. coli</i> O157:H7	Adsorpsi fisik	$2,5 \times 10^7$ CFU/mL	Dwiek <i>et al</i> , 2004
4	<i>E. coli</i>	Kovalen (Gluteraldehid)	$3 \times 10^2$ CFU/mL	De La Rika <i>et al</i> , 2009
5	<i>Bacillus cereus</i>	Entrapment ( <i>Thin Nafion Film</i> )	0,6 ng/mL	Susmel <i>et al</i> , 2005
6	<i>Salmonella typhimurium</i>	Cysteamine monolayer dan gluteraldehid	$10^3$ CFU/mL	Farka <i>et al</i> , 2016
7	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Self Assembled Monolayer</i> (SAMs) dan gluteraldehid	NA	Mantzila <i>et al</i> , 2008
8	<i>Salmonella typhi</i>	Kovalen	NA	Rao <i>et al</i> , 2005
9	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Self-Assembled Multilayer</i> (SAMu) <i>Chitosan-Alginate layer</i>	NA	Park <i>et al</i> , 2007
10	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Self-Assembled Monolayer</i> (SAMs)	10 CFU/mL	Braiek <i>et al</i> , 2012

## 2.7 Enzim Alkaline Phosphatase

Alkaline Phosphatase (AP) merupakan enzim yang terdapat pada jaringan tubuh manusia dengan kadar normal 25-100 IU/L. Alkaline Phosphatase biasa ditemukan di tulang, hati, ginjal, usus dan plasenta (Fishman and Stigbrand, 1983; Favus, 2006). Alkaline Phosphatase dapat juga dapat ditemukan pada *E.coli* yang diinduksi oleh *phosphate starvation* (Coleman, 1987) Alkaline Phosphatase dapat digunakan sebagai label enzim pada metode pendeteksian seperti ELISA, immunosensor, hibridisasi DNA dan sebagainya (Bolando, 2007). Enzim AP mengkatalisasi defosforilasi substrat menjadi produk yang dapat terdeteksi dan diuantifikasi secara umum dengan pengukuran *optical* dan *electrochemical* (Bolando, 2007).

## 2.8 Pewarna NBT-BCIP

NBT (*Nitro Blue tetrazolium Chloride*) dan BCIP (5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl Phosphate) merupakan substrat dari enzim *Alkaline Phosphatase* yang biasa digunakan dalam prosedur *western blotting* dan *pewarnaan immunohistologi* (Sigma Aldrich, 2008). BCIP akan dihidrolisis oleh Alkaline Phosphatase membentuk produk intermediat yang akan mengalami dimerisasi membentuk warna biru tua, kemudian NBT akan tereduksi menjadi NBT-diformazan oleh reduksi 2 atom hidrogen yang disebabkan oleh dimerisasi (Kundu, 2014). Sistem pewarnaan ini akan menghasilkan hasil akhir produk NBT diformazan tidak larut air berwarna biru hingga ungu yang dapat diamati secara langsung oleh mata (Sigma Aldrich, 2008). Mekanisme reaksi NBT-BCIP dengan enzim Alkaline Phosphatase dapat dilihat seperti pada **Gambar 2.3**



**Gambar 2.3.** Mekanisme Reaksi NBT-BCIP dengan enzim Alkaline Phosphatase (Kundu, 2014)

## 2.9 Gluteraldehid

Gluteraldehid memiliki struktur linier dialdehid dengan 5 gugus carbon yang memiliki warna jerami pucat hingga tidak berwarna, berbau seperti minyak dan dapat larut dalam air, alkohol maupun pelarut organik. Gluteraldehid biasa ditemukan dalam larutan dengan pH 3-4 dengan konsentrasi berkisar antara 2%-70%. Gluteraldehid memiliki biaya yang murah dan reaktivitas yang baik sehingga digunakan secara komersial dalam berbagai aplikasi (*Migneault et al*, 2004). Pada pH netral, gluteraldehid dapat bereaksi dengan cepat terhadap gugus amin dan memiliki kestabilan yang lebih baik dibandingkan dengan jenis aldehida lainnya (*Nimni et al*, 1987; *Okuda et al*, 1991).

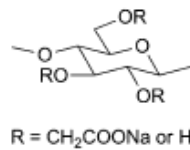
Gluteraldehid memiliki 2 gugus aldehid reaktif yang dapat bereaksi dengan berbagai gugus yang terdapat pada protein seperti gugus amin, thiol, fenol, imidazol yang merupakan penyusun sebagian besar rantai samping asam amino reaktif yang bersifat nukleofilik (*Shiver-Lake*, 1998). Pada range pH 2-11, gluteraldehid dilaporkan juga dapat berikatan dengan asam amino seperti lisin, tirosin, triptofan, fenilalanin, histidin, sistein, prolin, serin, glisin, dan arginin (*Bowes and Carter*, 1968; *Hopwood et al*, 1970; *Alexa et al*, 1971).

## 2.10 CMC (*Carboxymethyl Cellulose*)

*Carboxymethyl Cellulose (CMC)* merupakan senyawa turunan dari selulosa yang diperoleh dengan menambahkan gugus  $\text{CH}_2\text{COOH}$  ke dalam rantai molekul selulosa. CMC memiliki muatan negatif dalam bentuk larutan karena keberadaan gugus karboksil (*Laine et al*, 2002). Sifat yang dimiliki CMC diantaranya adalah memiliki viskositas tinggi, bersifat hidrofilik, non-toksik, dapat terurai, memiliki kemampuan membentuk film dan memiliki biokompatibilitas yang baik (*Heinze et al* 1999; *Wang and Somasundaran*, 2005; *Stigsson et al*, 2006; *Yang and Zhu*, 2007).

CMC merupakan salah satu senyawa turunan selulosa yang digunakan dalam proses imobilisasi biomolekul. CMC biasa digunakan dengan cara dilapiskan dan terserap kuat pada selulosa sehingga dapat menyediakan gugus karboksil tanpa perlu melakukan proses oksidasi pada selulosa sehingga menghindari gangguan pada jaringan ikatan hidrogen intramolekul pada struktur selulosa (*Olerma et al*, 2011). Adsorpsi *irreversible* yang terjadi antara CMC dengan selulosa diakibatkan oleh ikatan hidrogen antara glukopiranosida tidak

tersubstitusi dari CMC dengan glukopiranosida selulosa (Olerma *et al*, 2012). Struktur CMC dapat dilihat seperti pada **Gambar 2.4**.



**Gambar 2.4.** Struktur *Carboxymethyl Cellulose*  
(Habee *et al*, 2007)

### 2.11 Alginat

Alginat merupakan kopolimer alami yang berasal dari dinding sel alga coklat (Larsen *et al*, 2003; Fertah *et al*, 2014). Alginat memiliki komposisi utama berupa polimer linier  $\beta$ -(1,4)-D-asam manuronat (M) dan  $\alpha$ -L-asam glukoronat (G) dengan proporsi dan urutan sekuens yang bervariasi (Sharma and Gupta, 2002; Torres *et al*, 2007; Holme *et al*, 2008). Natrium alginat merupakan polisakarida anionik dengan beberapa sifat seperti tidak toksik, dapat didegradasi, memiliki kemampuan mengikat ion logam, memiliki biokompatibilitas serta bersifat hidrofobik. Beberapa kegunaan alginat diantaranya adalah sebagai matriks untuk proses enkapsulasi obat, menutup luka, rekayasa jaringan dan proses imobilisasi biomolekul (Choi *et al*, 1999; Orive *et al.*, 2004; Prang *et al*, 2006).

Alginat memiliki sejumlah besar gugus karboksil yang tersebar pada *backbone* polimer yang dimilikinya yang dapat dimanfaatkan untuk proses imobilisasi biomolekul (Cao, 2015). Metode imobilisasi yang umum digunakan menggunakan alginat adalah metode *entrapment* dengan memanfaatkan sifat alginat yang mampu membentuk gel dengan keberadaan ion divalen seperti  $\text{Ca}^{2+}$  (Martinsen, A *et al*, 1989). Alginat juga dapat digunakan dalam bentuk lapisan tipis untuk memodifikasi sifat dari platform dengan memanfaatkan sifat hidrofobiknya untuk membuat ikatan non kovalen (Wang *et al*, 2002).

### 2.12 Kertas Saring Whatmann #1

Kertas saring merupakan kertas yang umumnya digunakan untuk memisahkan fase padat dan cairan pada suatu sampel. Kertas saring memiliki parameter kualitas seperti kekuatan serap, retensi partikel dan kecepatan



menyaring. Pada umumnya kertas saring memiliki pori-pori sebesar  $0,45\mu\text{m}$  (Marliana, 2008). Kertas saring dapat digunakan sebagai platform biosensor dimana kertas saring whatmann #1 menjadi platform paling umum untuk digunakan karena kemampuan retensi, porositas dan kecepatan aliran yang dimilikinya (Dungchai *et al*, 2009; Jagadeesan *et al*, 2012; Fischer *et al*, 2016). Spesifikasi dari kertas saring whatmann #1 dapat dilihat seperti pada **tabel 2.3**

**Tabel 2.3** Spesifikasi Kertas Saring Whatmann #1

Material	Kecepatan Aliran (detik/100 mL)	Ketebalan ( $\mu\text{l}$ )	Abu (%)	Ukuran Pori-pori ( $\mu$ )	Berat ( $\text{g/m}^2$ )
Selulosa	150	180	<0,06	11	87

Sumber: Sigma Aldrich (2017)

Kertas saring memiliki keunggulan seperti harga yang murah, mudah diperoleh, ramah lingkungan, mudah dimodifikasi secara kimia dan berwarna putih sehingga baik untuk digunakan dalam pengujian berbasis kolorimetri karena dapat menimbulkan kontras dengan warna yang terbentuk sebagai hasil pengujian (Martinez *et al*, 2010). Oleh karena keunggulan yang dimiliki dan telah banyak digunakan sebagai platform untuk pembuatan biosensor, maka kertas saring Whatmann #1 dapat digunakan sebagai platform untuk pembuatan PILATOR.

### 2.13 BSA (*Bovine Serum Albumin*)

*Bovine Serum Albumin* merupakan albumin yang berasal dari mamalia dengan ukuran protein 68 Kda yang memiliki penggunaan yang luas sebagai *blocking agent*, nutrisi untuk kultur jaringan dan *stabilizer* enzimatis. BSA merupakan *blocking agent* yang paling umum digunakan dalam pendeteksian biologis karena kestabilannya, tidak memiliki efek pada reaksi biokimia, dan biayanya yang murah (Peter, 1985; Steinitz, 2000; Munoz *et al* 2008; Bolduc dan Manson, 2008; Ogi *et al*, 2009). Protein-protein seperti BSA, CSA, casein and beberapa jenis protein susu lainnya diketahui memiliki kemampuan yang baik dalam mencegah pengikatan sel non spesifik pada permukaan terutama dengan keberadaan tween 20 (Steinitz, 2000). Kekurangan penggunaan BSA adalah dapat menyebabkan respon *false negative* karena terdapat kemungkinan terjadinya intervensi interaksi molekul yang diinginkan dengan biosensor (Bolduc dan Manson, 2008).

#### **2.14 Phospate Buffered Saline**

*Phospate Buffered Saline* (PBS) adalah buffer yang biasa digunakan dalam penelitian biologi sebagai pelarut maupun sebagai buffer pencuci (*wash buffer*) (Abcam, 2017). Buffer ini merupakan larutan garam berbasis air dengan kandungan natrium phospat, natrium klorida dan terkadang dalam formulasi tertentu terdapat kalium klorida dan kalium phospat. Tekanan osmosis dan kosentrasi ion dalam larutan buffer ini sesuai dengan kondisi tubuh (isotonik) dan tidak toksik bagi kebanyakan sel. PBS memiliki pH 7,4 (Sigma Aldrich, 2017). Penggunaan PBS sebagai buffer pencuci dapat dikombinasikan dengan Tween 20 yang dapat meningkatkan efektivitas pencucian sehingga dapat menurunkan background pewarnaan (Abcam, 2017). Campuran PBS dengan tween sering disebut sebagai PBS-T.

## **BAB III**

### **DESAIN TEKNOLOGI**

#### **3.1 Tempat dan Pelaksanaan Program**

Pembuatan PILATOR dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Laboratorium Bioteknologi Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya dengan waktu pelaksanaan program pada bulan Maret-Agustus 2017 dan November- Desember 2017.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **a. Alat**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah mikropipet 1-10 $\mu$ L and 100-1000 $\mu$ L (*Thermo Scientific*), mikrotip putih, kuning dan biru (*Socorex*), Freezer -40°C (*Labex 125*), autoklaf (*GEA*), Inkubator (*Yamato*), vorteks (*Biologix*), rak tabung reaksi, jarum ose, mikrotube, kompor listrik (*maspion*), botol semprot, bunsen, *hot plate stirrer* (*Thermo Scientific*), glassware (*Iwaki Pyrex*), dan scanner (*CanoScan LiDE 120*).

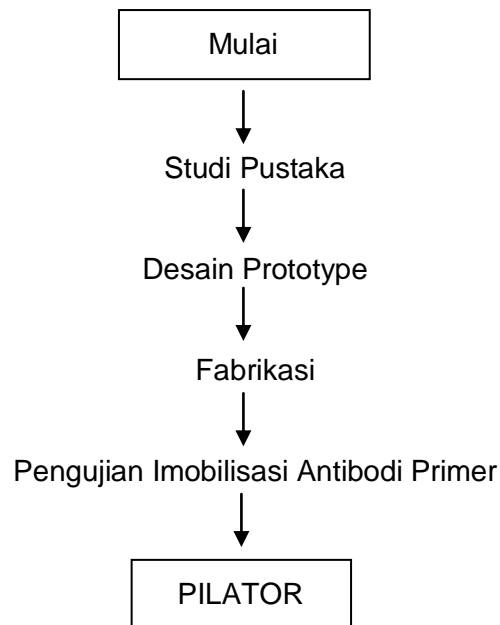
##### **b. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibodi anti *Salmonella* (*BIOS*), *phosphate buffered saline* (*Merck*), *goat anti rabbit igG-AP labeled* (*Chemicon*), NBT-BCIP (*Thermo Scientific*), Kultur *Salmonella Thypimurium*, Natrium Agar (*Merck*), *Bovine Serum Albumin* (*Nacalai*), gluteraldehid (*Sigma*), CMC, alginat, kertas saring whatmann #1, akuades (*Egra*), alkohol (*Egra*), *aluminium foil*, kapas, tisu, kertas payung, plastik steril, dan kertas label.

#### **3.3 Metode Perancangan**

Perancangan alat PILATOR dimulai dengan melakukan studi pustaka dengan melihat pada referensi seperti jurnal ilmiah dan *Handbook* sebagai acuan dalam pembuatan desain alat. Selanjutnya dilakukan tahap desain alat sesuai hasil studi pustaka dan fabrikasi alat. Alat yang telah dibuat kemudian dilakukan

proses pengujian sebelum dievaluasi hasilnya. Jika terdapat evaluasi yang mengarah pada arah perbaikan, maka akan dilakukan fabrikasi dan pengujian ulang sebelum akhirnya alat siap untuk diimplementasikan pada penggunaan secara luas. Diagram alir perancangan alat dapat dilihat seperti yang tertera pada **Gambar 3.1**.



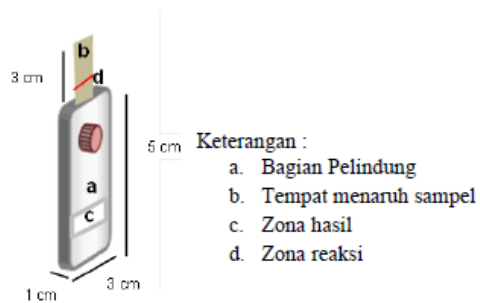
**Gambar 3.1.** Diagram Alir Perancangan PILATOR

### 3.3.1 Studi Pustaka

Studi pustaka dilakukan sebagai tahapan awal untuk perancangan PILATOR. Studi pustaka dilakukan untuk mengetahui metode pendeteksian *Salmonella* terdahulu serta untuk mempelajari berbagai dasar teori yang akan digunakan sebagai landasan pembuatan PILATOR. Pustaka yang digunakan diantaranya adalah jurnal ilmiah, *handbook*, *E-book*, dan buku referensi mata kuliah.

### 3.3.2 Desain Prototype

Studi Pustaka yang dilakukan pada tahapan sebelumnya kemudian diaplikasikan pertama-tama dengan melakukan desain visual prototype PILATOR seperti yang dapat dilihat pada **gambar 3.2**.



**Gambar 3.2.** Desain Visual Prototype PILATOR

PILATOR didesain sesuai dengan standar desain dan hasil peninjauan pustaka sehingga alat ini diharapkan akan mudah untuk diaplikasikan pada berbagai jenis sampel. PILATOR dibuat dengan bahan dasar kertas saring whatmann #1. Bagian pelindung pada PILATOR merupakan plastik *hardcase* yang berfungsi untuk melindungi kertas whatmann #1 yang telah difabrikasi dari kerusakan. Bagian kedua dari alat ini adalah tempat untuk menaruh sampel yang akan diujikan. Bagian ketiga dari alat ini adalah zona reaksi yaitu tempat terjadinya reaksi antara antibodi sekunder bertag enzim alkaline phosphatase dengan sampel dan bagian terakhir dari alat ini adalah zona hasil yaitu tempat perubahan warna terbentuk sebagai indikator hasil uji dimana bila terdapat *Salmonella* pada sampel maka akan terjadi *Sandwich Assay* antara antibodi sekunder yang telah mengikat *Salmonella* dengan antibodi primer yang telah diimobilisasi pada zona hasil.

### 3.3.3 Fabrikasi PILATOR

Tahapan fabrikasi PILATOR pada percobaan ini dilakukan dengan mengacu pada Cao (2015), Olerma *et al* (2012), dan Wang *et al* (2012) dengan beberapa modifikasi. Fabrikasi PILATOR dilakukan dengan tahapan sebagai berikut.

#### 1. Tahapan Persiapan Platform

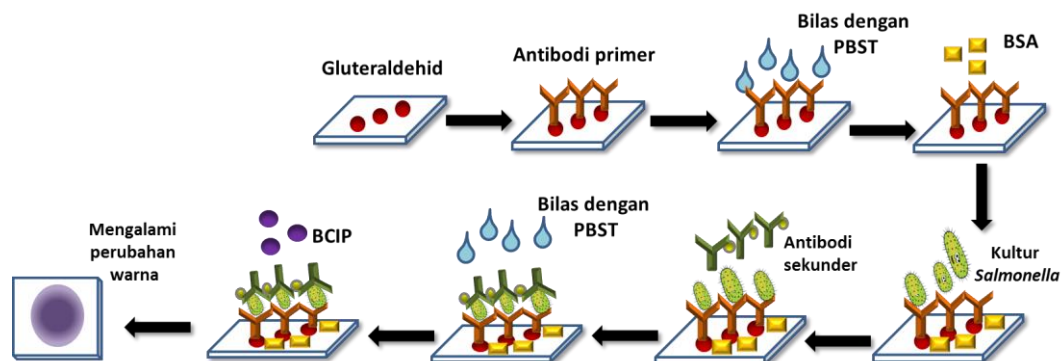
Tahapan preparasi platform dilakukan dengan menyiapkan kertas uji yang akan digunakan sebagai platform yaitu kertas saring whatmann #1 yang kemudian dilakukan proses sterilisasi menggunakan oven dengan suhu 121°C selama 60 menit.

## 2. Tahapan Persiapan Reagen

Tahapan persiapan reagen dilakukan dengan membuat reagen seperti glutaraldehid (2%, 3%, 4%, 5%, dan 6%), alginat (2%), CMC (2%), BSA (1%), larutan PBS-T yang dibuat dengan mencampurkan tween 20 dengan PBS, mengencerkan antibodi primer (10 $\mu$ g/mL) dan membuat antibodi sekunder (200 ng/mL) dari campuran *anti-rabbit* dengan antibodi primer. Tahapan persiapan reagen dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

## 3. Tahapan Fabrikasi PILATOR

Fabrikasi dilakukan dengan tahapan sebagai berikut: platform kertas modifikasi dengan penambahan 4 $\mu$ l glutaraldehid dan dibiarkan kering (10 menit, 25°C). Lalu, 4 $\mu$ l antibodi primer diteteskan dan tunggu hingga kering (10 menit, 25°C). Dibilas kertas uji dengan 100 $\mu$ l PBS-T dan dikeringkan (30 menit, 25°C). Kemudian ditambahkan 4 $\mu$ l BSA sebagai blocking agent pada zona hasil untuk menutupi area yang tidak berikatan dengan antibodi primer dan diamkan hingga kering (10 menit, 25°C). Selanjutnya ditambahkan kultur murni *Salmonella* sebanyak 10 $\mu$ l dan didiamkan hingga kering 10 menit, 25°C). Setelah itu, ditambahkan antibodi sekunder sebanyak 4 $\mu$ l dan ditunggu hingga kering (10 menit, 25°C). Kemudian bilas kertas uji dengan menggunakan 100 $\mu$ l PBS-T dan dikeringkan (30 menit, 25°C). Terakhir, tambahkan 4 $\mu$ l NBT-BCIP sebagai substrat dan amati perubahan warna yang terjadi. Hasil uji positif akan ditandai dengan terbentuknya warna keunguan pada kertas uji. Tahapan Fabrikasi dapat dilihat seperti pada **gambar 3.3**.



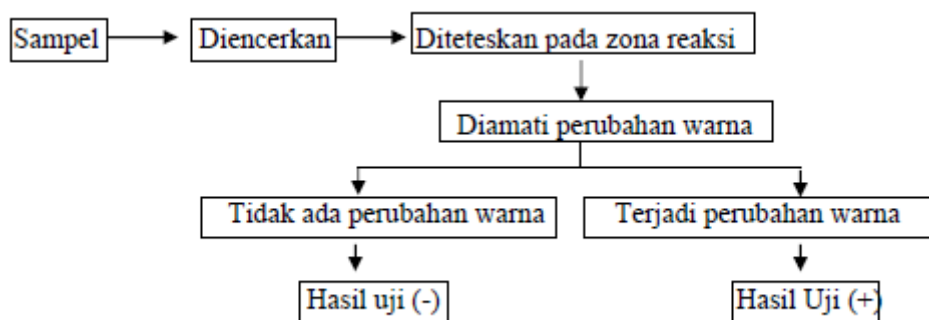
**Gambar 3.3.** Tahapan Fabrikasi PILATOR

### 3.3.4 Pengujian Imobilisasi Antibodi (Modifikasi Chan and Lim, 2016)

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh teknik imobilisasi adsorpsi fisik sebagai kontrol, adsorpsi fisik modifikasi permukaan menggunakan alginat 2% dan CMC 2% dan kovalen menggunakan glutaraldehid 2% terhadap imobilisasi antibodi primer pada platform kertas. Pengujian dilakukan dengan membilas zona hasil biosensor yang telah difabrikasi dengan menggunakan 100µl PBS-T. Kemudian biosensor yang telah dibilas diuji menggunakan kultur murni *Salmonella* untuk mengetahui intensitas warna yang terbentuk pada setiap kertas pengujian. Setelah 10 menit pasca peneteskan BCIP, hasil pengujian akan dipindai menggunakan Scanner (CanoScan LiDE 120) setiap 5 menit sekali dan diukur intensitas warnanya menggunakan perangkat lunak image editor Adobe® Photoshop® CS6.

### 3.4 Mekanisme Kerja PILATOR

Mekanisme kerja PILATOR didasarkan pada prinsip *Sandwich assay* dimana antigen *Salmonella* pada sampel akan ditangkap oleh antibodi sekunder bertag enzim *Alkaline Phosphatase* dan antibodi primer yang telah diimobilisasikan pada zona hasil. Kemudian dengan penambahan substrat berupa BCIP, maka akan terjadi perubahan warna pada zona hasil. Sebaliknya, jika tidak terdapat *Salmonella* pada sample maka tidak akan terbentuk ikatan antara antibodi primer dan sekunder sehingga tidak ada perubahan warna yang terbentuk setelah penambahan substrat. Mekanisme kerja PILATOR dapat dilihat seperti pada **gambar 3.4**.



**Gambar 3.4.** Mekanisme Kerja PILATOR

### **3.5 Rencana Implementasi**

Rencana Implementasi alat PILATOR adalah dengan pertama-tama melakukan pembuatan alat yang dilanjutkan dengan serangkaian pengujian untuk menentukan performansi yang terbaik dari PILATOR. Langkah berikutnya yang ditempuh adalah pengurusan surat keterangan paten alat untuk memperoleh perlindungan hukum atas inovasi yang dikembangkan. Kemudian, alat PILATOR akan mulai diperkenalkan pada masyarakat dengan melakukan publikasi baik secara ilmiah maupun publikasi media. Berikutnya, alat PILATOR akan ikut berpartisipasi pada Lokakarya oleh pihak pemerintah, industri dan praktisi sebagai langkah awal dalam upaya komersialisasi alat agar PILATOR dapat digunakan secara luas baik di badan keamanan pangan, industri pangan maupun masyarakat umum dalam usaha menjaga kemandirian pangan.



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Desain PILATOR

PILATOR merupakan kit pendeteksi *Salmonella* pada bahan pangan yang didesain secara praktis sehingga diharapkan mampu digunakan oleh masyarakat umum secara mudah. Desain dan spesifikasi alat PILATOR dapat dilihat seperti pada **gambar 4.1**.



**Gambar 4.1.** Desain dan Spesifikasi PILATOR

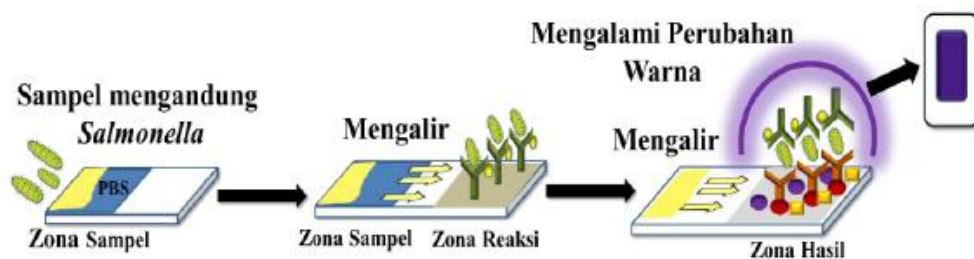
PILATOR menggunakan hardcase berupa plastik *acetal copolymer* dengan dimensi 14 x 1,4 x 0,8 cm yang bertujuan sebagai bahan pelindung untuk kertas uji. Kertas uji yang digunakan untuk PILATOR adalah berupa kertas Whatmann #1 dengan ukuran 12 x 0,5 cm dengan besar zona reaksi sebesar 1 x 0,5 cm. PILATOR memiliki 3 zona yaitu zona sampel yang merupakan tempat menaruh sampel yang akan diuji, zona reaksi tempat terjadinya reaksi antara sampel dan antibodi sekunder dan yang terakhir zona reaksi tempat terjadinya reaksi sandwich assay antara antibodi primer yang telah diimobilisasi dengan antibodi sekunder. Alat PILATOR yang telah difabrikasi akan dikemas dalam kemasan berisi 1 buah PILATOR, 1 buah refil kertas uji dan 1 botol PBS sebagai larutan pengencer. Gambar kemasan PILATOR dapat dilihat seperti pada **gambar 4.2**.



**Gambar 4.2** Kemasan PILATOR

#### 4.2 Prinsip Kerja PILATOR

Prinsip kerja PILATOR adalah sebagai berikut: Sampel yang ditetaskan pada zona sampel akan mengalir menuju zona reaksi dimana pada zona tersebut telah terdapat antibodi sekunder yang telah ditag dengan enzim *Alkaline Phosphatase*. Kemudian, sampel bersama dengan antigen sekunder akan mengalir menuju zona hasil dimana pada zona hasil telah diimobilisasi antibodi primer. Jika terdapat antigen *Salmonella* pada sampel, maka akan terjadi *sandwich assay* antara antibodi sekunder bertag enzim *Alkaline Phosphatase* dengan antibodi primer. Kemudian enzim *Alkaline Phosphatase* pada antibodi sekunder akan bereaksi dengan substrat NBT-BCIP yang telah diletakkan pada zona hasil membentuk warna biru keunguan sebagai indikator hasil uji (+). Jika tidak terdapat *Salmonella* pada sampel, maka tidak akan terbentuk *sandwich assay* sehingga tidak akan terbentuk perubahan warna. Prinsip kerja PILATOR dapat dilihat seperti pada **gambar 4.3**.



**Gambar 4.3.** Prinsip Kerja PILATOR

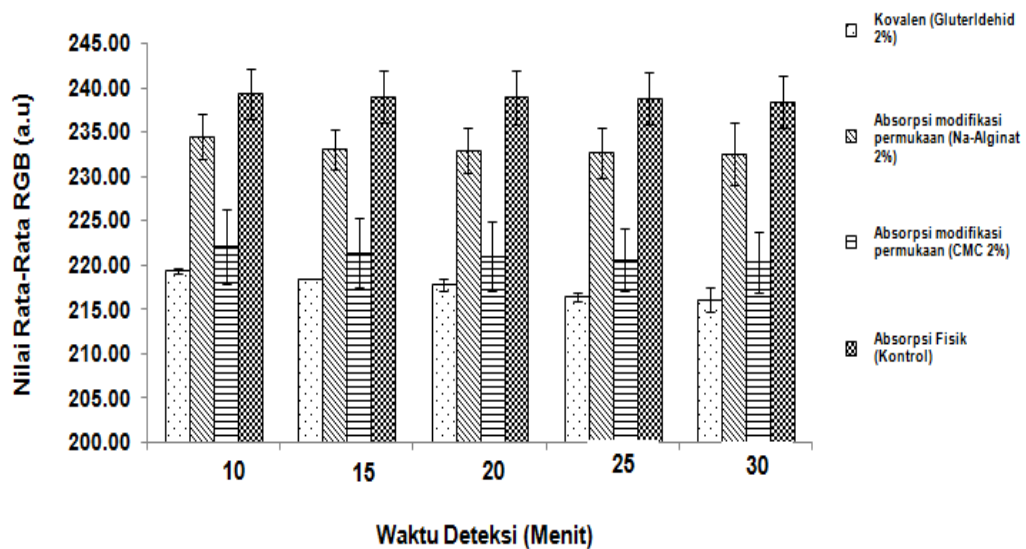
Sementara itu, tahapan cara penggunaan PILATOR untuk menguji sampel dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

### 4.3 Pengujian PILATOR

#### 4.3.1 Pengujian Immobilisasi Antibodi Primer

Pembuatan biosensor yang akan digunakan dalam pengujian dilakukan seperti pada tahapan fabrikasi PILATOR menggunakan kertas whatman #1 dengan ukuran 1 x 1 cm. Hasil pengujian dinyatakan dalam nilai rata-rata RGB. RGB adalah representasi distribusi warna merah, biru dan hijau dalam sebuah gambar. Nilai range dari RGB adalah mulai dari 0 hingga 255, dimana semakin rendah nilai rata-rata yang ditunjukkan, maka semakin gelap warna yang dihasilkan (Kusumaningtyas dan Amara, 2016).

Pengujian immobilisasi antibodi primer dilakukan dengan menguji immobilisasi antibodi primer berdasarkan perubahan warna yang terjadi pada kertas dengan teknik immobilisasi yang berbeda-beda adsorpsi fisik (kontrol), adsorpsi fisik modifikasi permukaan (Na-alginat 2%, dan CMC 2%) dan kovalen (gluteraldehid 2%) untuk menentukan teknik immobilisasi yang paling baik untuk proses immobilisasi antibodi primer. Hasil pengujian teknik immobilisasi yang diperoleh dapat dilihat pada **gambar 4.4**.



**Gambar 4.4.** Hasil Pengujian Teknik Immobilisasi

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari pengujian, pada penggunaan teknik immobilisasi kovalen menggunakan gluteraldehid 2% diperoleh hasil pengujian dengan intensitas warna yang paling gelap dibandingkan dengan

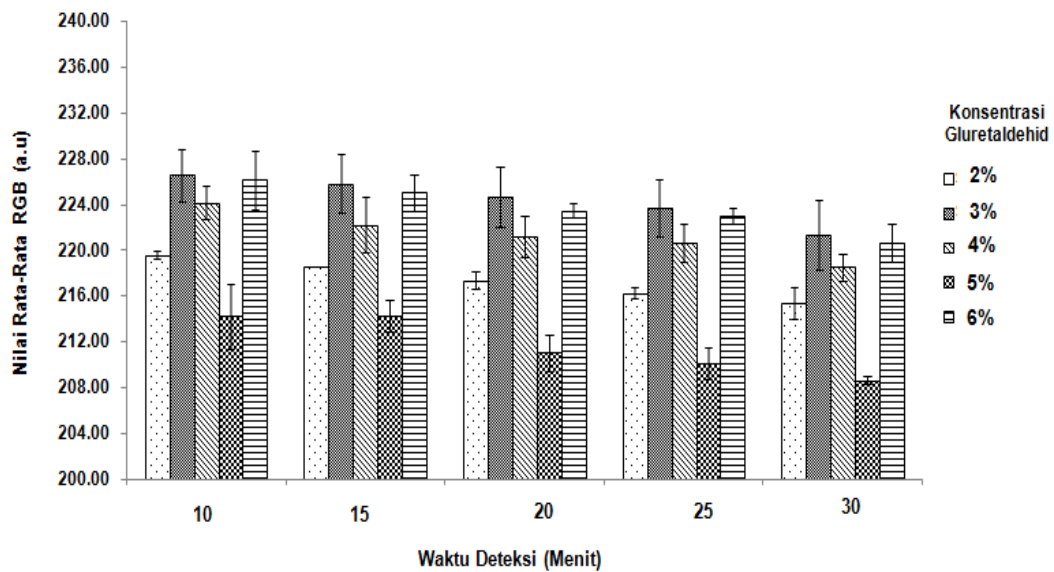
penggunaan reagen lainnya ditandai dengan nilai rata-rata RGB yang paling kecil yaitu sebesar  $215,31 \pm 1,39$  a.u pada menit ke 30 (**Lampiran 3**). Sementara itu, biosensor kontrol yang menggunakan teknik imobilisasi absorpsi fisik menunjukkan warna yang paling terang atau nilai rata-rata RGB yang paling tinggi yaitu sebesar  $238,46 \pm 2,85$  a.u pada menit ke 30 (**Lampiran 3**).

Imobilisasi menggunakan glutaraldehid menunjukkan hasil yang paling baik disebabkan karena penambahan glutaraldehid membuat permukaan kertas mengandung gugus reaktif aldehid yang mampu untuk membentuk ikatan kovalen yang kuat dan stabil dengan antibodi. Terbentuknya ikatan kovalen antara glutaraldehid dan antibodi disebabkan karena keberadaan gugus residu hidrofilik yang reaktif seperti gugus amina, karboksil dan hidroksil pada permukaan antibodi (Trilling *et al*, 2013; Trilling *et al*, 2014; Hui *et al*, 2015). Pernyataan tersebut juga didukung oleh pernyataan oleh Nimni *et al* (1987) dan Okuda *et al* (1991) yang menyatakan bahwa pada pH yang cenderung netral, glutaraldehid akan beraksi dengan cepat terhadap gugus amin dan memiliki kestabilan yang lebih baik dibandingkan dengan jenis aldehida lainnya. Glutaraldehid juga mampu bereaksi dengan gugus lain yang terdapat pada protein seperti gugus amin, thiol, fenol, imidazol yang merupakan penyusun sebagian besar rantai samping asam amino reaktif yang bersifat nukleofilik, serta asam amino seperti lisin, tirosin, triptofan, fenilalanin, histidin, sistein, prolin, serin, glisin, dan arginin (Bowes and Carter, 1968; Hopwood *et al*, 1970; Alexa *et al*, 1971; Shiver-Lake, 1998).

Hasil pengujian kontrol menunjukkan hasil nilai rata-rata RGB yang paling tinggi disebabkan karena tanpa adanya penambahan reagen imobilisasi, antibodi tidak akan terikat secara kuat pada permukaan kertas sehingga akan hilang pada proses pencucian kertas. Metode imobilisasi yang digunakan pada pengujian kontrol adalah jenis imobilisasi adsorpsi fisik yang memanfaatkan interaksi non kovalen kovalen seperti ikatan van der Waals, ikatan hidrogen, dan interaksi hidrofobik (Shiver-Lake, 1998; Shankaran and Norio, 2007). Grup fungsional yang tersedia pada kertas uji yaitu berupa selulosa adalah grup hidroksil *backbone* dan ujung reduksi cincin selulosa. Gugus fungsi yang tersedia tersebut kurang begitu reaktif sehingga antibodi tidak akan terikat kuat pada platform dan dapat hilang dengan proses pencucian (Credou *et al*, 2013; Credou and Berthelot, 2014).

Sementara pada hasil pengujian teknik imobilisasi adsorpsi fisik modifikasi permukaan menggunakan Natrium Alginat 2% dan CMC 2% menunjukkan hasil nilai rata-rata RGB yang lebih baik dari kontrol, tetapi nilai rata-rata RGB yang dihasilkan masih lebih rendah dibandingkan dengan glutaraldehid. Hal ini disebabkan karena penambahan Natrium Alginat dan CMC menambah jumlah gugus reaktif pada kertas pengujian yang akan bereaksi dan membentuk ikatan non kovalen. Alginat bersifat anionik serta memiliki sejumlah besar gugus karboksil yang tersebar pada *backbone* polimer yang dimilikinya yang dapat dimanfaatkan untuk proses imobilisasi biomolekul (Cao, 2015). Alginat dapat digunakan dalam bentuk lapisan tipis untuk memodifikasi sifat dari platform dengan memanfaatkan sifat hidrofobiknya untuk membuat ikatan non kovalen (Wang *et al*, 2002). Sementara itu, CMC merupakan salah satu senyawa turunan selulosa yang digunakan dalam proses imobilisasi biomolekul. CMC biasa digunakan dengan cara dilapiskan dan terserap kuat pada selulosa sehingga dapat menyediakan gugus karboksil tanpa perlu melakukan proses oksidasi pada selulosa sehingga menghindari gangguan pada jaringan ikatan hidrogen intramolekul pada struktur selulosa (Olerma *et al*, 2011). Meskipun terdapat penambahan gugus reaktif dengan penggunaan Na-Alginat dan CMC yang mengindikasikan semakin banyaknya antibodi yang dapat berikatan, akan tetapi ikatan yang terbentuk antara antibodi dengan Na-Alginat atau CMC merupakan ikatan non kovalen yang lemah dan mudah tercuci oleh pembilasan (Credou *et al*, 2013) sehingga tidak dapat menghasilkan perubahan warna yang baik seperti pada penggunaan glutaraldehid.

Pengujian selanjutnya adalah pengujian imobilisasi antibodi primer teknik kovalen menggunakan glutaraldehid dengan 5 konsentrasi yang berbeda yaitu 2%, 3%, 4%, 5% dan 6% untuk mencari konsentrasi glutaraldehid yang mampu melakukan imobilisasi antibodi primer paling baik. Hasil pengujian imobilisasi antibodi primer teknik kovalen dengan menggunakan glutaraldehid dengan berbagai konsentrasi dapat dilihat pada **gambar 4.5**.



**Gambar 4.5.** Hasil Pengujian Imobilisasi Antibodi Primer Teknik Kovalen dengan Berbagai Konsentrasi Gluteraldehid

Pengujian efektivitas imobilisasi antibodi menggunakan glutaraldehyd berbagai konsentrasi menunjukkan hasil bahwa konsentrasi glutaraldehyd yang menghasilkan intensitas warna yang paling baik adalah glutaraldehyd dengan konsentrasi 5% ditandai dengan nilai rata-rata RGB yang dihasilkan paling gelap yaitu sebesar  $208,65 \pm 0,38$  a.u pada menit ke 30 (**Lampiran 3**). Sementara itu, nilai RGB paling tinggi ditunjukkan oleh glutaraldehyd konsentrasi 3% dengan rata-rata nilai RGB sebesar  $221.39 \pm 3,06$  a.u pada menit ke 30 (**Lampiran 3**).

Glutaraldehyd dalam larutan dapat memiliki berbagai bentuk mulai dari bentuk paling sederhana yaitu monomer dialdehyd hingga berbagai bentukan lain seperti dimer, trimer dan polimer. Berbagai bentuk dari glutaraldehyd ini menyebabkan banyaknya kemungkinan reaksi yang mungkin dapat terjadi dalam mekanisme pengikatan biomolekul sehingga pengikatan biomolekul oleh glutaraldehyd belum dapat diketahui secara pasti (Migneault *et al*, 2004). Meskipun begitu, beberapa publikasi telah menemukan bahwa glutaraldehyd dapat bereaksi dengan berbagai gugus yang terdapat pada protein seperti gugus amin, thiol, fenol, imidazol yang merupakan penyusun sebagian besar rantai samping asam amino reaktif yang bersifat nukleofilik dan pada range pH 2-11, glutaraldehyd dilaporkan juga dapat berikatan dengan asam amino seperti lisin, tirosin, triptofan, fenilalanin, histidin, sistein, prolin, serin, glisin, dan arginin

(Bowes and Carter, 1968; Hopwood *et al*, 1970; Alexa *et al*, 1971; Shiver-Lake, 1998).

Hasil Pengujian imobilisasi antibodi primer dengan menggunakan berbagai konsentrasi glutaraldehid menunjukkan hasil pada konsentrasi 2%, nilai rata-rata RGB yang terbentuk adalah sebesar  $215,31 \pm 1,39$  a.u pada menit ke 30 (**Lampiran 3**), kemudian terjadi peningkatan nilai rata-rata RGB pada menit ke 30 untuk konsentrasi 3% menjadi  $221,39 \pm 3,06$  a.u (**Lampiran 3**), kemudian terjadi penurunan kembali nilai rata-rata RGB untuk konsentrasi 4% dan 5% pada menit ke 30 menjadi  $218,56 \pm 1,16$  a.u dan  $208,65 \pm 0,38$  a.u (**Lampiran 3**) sebelum mengalami peningkatan kembali menjadi  $220,68 \pm 1,63$  a.u (**Lampiran 3**). Peningkatan nilai rata-rata RGB dari konsentrasi 2% ke 3% diduga diakibatkan oleh penambahan glutaraldehid yang menyebabkan warna kertas menjadi kekuningan sehingga nilai *background* menjadi lebih tinggi, hal tersebut didukung oleh pernyataan oleh Pivetal *et al* (2017) yang menyatakan bahwa penggunaan glutaraldehid dapat menyebabkan nilai *background* yang tinggi pada beberapa jenis pengujian dan nilai background yang dihasilkan bergantung pada besar konsentrasi glutaraldehid yang digunakan. Pada pengujian 3% hingga 5%, hasil pengujian menunjukkan penurunan nilai rata-rata RGB hingga mencapai titik terendah pada konsentrasi 5%. Penurunan nilai rata-rata RGB tersebut diduga disebabkan karena penambahan glutaraldehid dengan konsentrasi yang semakin tinggi akan membuat permukaan kertas mengandung lebih banyak gugus reaktif aldehid yang tersedia untuk berikatan dengan antibodi. Pendugaan tersebut dilakukan karena adanya pertanyaan yang menyatakan bahwa glutaraldehid merupakan agen imobilisasi yang memiliki kestabilan yang baik dibandingkan dengan jenis aldehida lainnya (Nimni *et al*, 1987; Okuda *et al*, 1991) dan pernyataan dari Pivetal *et al* (2017) yang menyatakan penggunaan konsentrasi glutaraldehid yang tinggi dilakukan sebagai upaya untuk memaksimalkan imobilisasi *capture antibody*. Nilai rata-rata RGB kemudian mengalami kenaikan kembali pada konsentrasi glutaraldehid 6% diduga disebabkan oleh terjadinya ikatan silang yang menyebabkan perubahan struktur kimia dari antibodi yang menyebabkan terjadinya inaktivasi. Pernyataan ini didukung oleh Hosseini *et al* (2014) yang menyatakan bahwa keberadaan gugus fungsional yang terlalu banyak akan menyebabkan *steric repulsion* yang berakibat pada deaktivasi protein dan pernyataan oleh Bangs Laboratories (2013) yang menyatakan bahwa terlalu banyak penambahan glutaraldehid akan

menyebabkan protein kehilangan konformasi alaminya sehingga akan terjadi penurunan aktivitas biologisnya.

#### **4.4 Implementasi PILATOR**

##### **4.4.1 Kelebihan dan Kekurangan PILATOR**

PILATOR merupakan alat pendeteksi keberadaan *Salmonella* pada bahan pangan yang menggunakan prinsip biosensor kolorimetri berbasis immusensor. Performansi yang diharapkan dari PILATOR diantaranya adalah terciptanya alat pendeteksi *Salmonella* pada bahan pangan yang praktis, portable, cepat, akurat dan murah. Kelebihan dari alat PILATOR diantaranya adalah:

1. Selektif terhadap bakteri *Salmonella* karena menggunakan bioreseptor berupa antibody yang bersifat selektif terhadap antigen pasangannya;
2. Memiliki ukuran yang kecil yaitu sebesar 14 x 1,4 x 0,8 cm sehingga bersifat portable atau mudah dibawa kemana saja;
3. Dapat melakukan pendeteksian dengan mudah tanpa memerlukan keahlian khusus;
4. Pendeteksian dapat dilakukan dimana saja atau bersifat *on-site detection*;
5. Memiliki waktu pengujian yang relatif cepat dibandingkan metode pendeteksian lainnya yaitu hanya selama 25-30 menit;
6. Memiliki harga yang relatif murah yaitu sebesar Rp. 32.000,00 per kemasan dimana 1 kemasan akan memiliki 1 buah PILATOR berserta 1 refill kertas uji dan larutan pengencer PBS.

PILATOR juga memiliki beberapa kekurangan diantaranya adalah:

1. Belum dilakukannya pengujian untuk mengetahui secara pasti umur simpan dan stabilitas suhu dari alat PILATOR;
2. Deteksi masih bersifat semi-kualitatif dimana masih memerlukan bantuan *software* untuk melakukan kuantifikasi hasil pengujian;
3. Tidak dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan bakteri patogen lainnya pada bahan pangan;
4. Satu kertas PILATOR hanya dapat digunakan untuk sekali pengujian saja.



#### 4.4.2 Perbandingan PILATOR dengan Metode Deteksi *Salmonella* Sebelumnya

Metode pendeteksian keberadaan *Salmonella* pada produk pangan di Indonesia yang telah dilakukan selama ini memiliki beberapa alternatif metode seperti menggunakan metode pengujian mikrobiologi, PCR, ELISA, yang memerlukan keahlian lab khusus yang melibatkan banyak peralatan dan bahan-bahan kimia tertentu serta waktu deteksi yang relatif lama. Perkembangan selanjutnya adalah dengan menggunakan mesin Vitex yang memerlukan tidak memerlukan bahan dan peralatan tambahan, akan tetapi masih memerlukan keahlian tertentu dalam mengoperasikan mesin tersebut.

Perkembangan terbaru dari metode pendeteksian *Salmonella* adalah dilakukannya pendeteksian menggunakan produk-produk kolorimetri biosensor yang memiliki akurasi dan waktu pengujian yang relatif singkat serta kemudahan dalam melakukan pengujian. Biosensor pendeteksian *Salmonella* yang telah beredar diantaranya adalah *Rapid Check® Select™ Salmonella* yang diproduksi oleh Romer Lab dari Austria dan *Singlepath® Salmonella* yang merupakan produksi Merck German. Kedua biosensor ini memiliki sensitivitas yang baik dan waktu deteksi yang relatif lebih singkat dibandingkan dengan metode konvensional, akan tetapi masih memerlukan serangkaian inkubasi terhadap sampel sebelum dapat langsung diujikan. Penampakan dari *Rapid Check® Select™ Salmonella* dan *Singlepath® Salmonella* dapat dilihat pada **gambar 4.6**.



a)



b)

**Gambar 4.6.** Biosensor *Salmonella* a) *Singlepath® Salmonella* (Merck, 2017), b) *Rapid Check® Select™ Salmonella* (Romer Lab, 2017)

Perbandingan kelebihan dan kekurangan dari PILATOR dibandingkan dengan biosensor pendeteksi *Salmonella* komersial yang telah beredar dipasaran dapat dilihat pada **tabel 4.3**.

**Tabel 4.3.** Perbandingan PILATOR dengan Biosensor *Salmonella* komersial

Jenis Pendeteksian		Kelebihan	Kekurangan
Rapid Select™	Check® <i>Salmonella</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Waktu pendeteksian 10-20 menit setelah penetesan sampel (dengan waktu total deteksi 22-30 jam terhitung dari inkubasi sampel hingga hasil keluar)</li> <li>-Umur alat 18 bulan pada suhu ruang</li> <li>-Portable</li> <li>-Sudah memiliki sertifikat AOAC, AFNOR, FDA, NPIP</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Harga mahal karena merupakan barang impor</li> <li>-Masih memerlukan proses inkubasi sampel</li> <li>-Tidak <i>on site detection</i></li> </ul>
Singlepath®	<i>Salmonella</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Waktu pendeteksian 20 menit setelah penetesan sampel (dengan waktu total deteksi 42-47 jam terhitung dari inkubasi sampel hingga hasil keluar)</li> <li>-Sensitivitas tinggi</li> <li>-Portable</li> <li>-Sudah memiliki sertifikat AOAC</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Harga mahal Rp. 2.941.000,00 untuk 25 kit uji (sekitar Rp.100.000,00 per kit)</li> <li>-Memerlukan proses inkubasi sampel</li> <li>-Tidak <i>on site detection</i></li> </ul>
Rapid <i>Salmonella</i> Detector (PILATOR)		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Harga alat Rp. 32.000,00 untuk 2 kertas uji</li> <li>- Portable</li> <li>- Waktu deteksi 25-30 menit</li> <li>- Tidak membutuhkan keahlian khusus</li> <li>- <i>On-site Detection</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Belum dilakukan standarisasi dan pengujian oleh lembaga pengujian terpercaya</li> <li>-Umur dan kestabilan suhu alat belum diuji</li> </ul>

#### 4.4.3 Potensi Komersial PILATOR

Kasus demam tifoid dilaporkan sebanyak 16 juta kasus dengan kematian sebanyak 600.000 kasus dan kasus non tifoid yaitu gastroenteritis dilaporkan sebanyak 1,3 miliar dengan kematian sebesar 13 juta kasus (Portillo, 2000; Pui et al, 2011). Di Indonesia sendiri, berdasarkan hasil studi epidemiologi dan survey, angka morbiditas akibat *Salmonellosis* adalah sebesar 358/100.000 penduduk di daerah semi pedesaan dan meningkat menjadi 810/100.000 penduduk pada daerah perkotaan (Suwandono dan Destri, 2005). Berdasarkan data-data kasus keracunan akibat *Salmonella* tersebut, PILATOR yang

merupakan inovasi pendeteksian *Salmonella* pada bahan pangan yang cepat dan praktis berpotensi untuk dilakukan komersialisasi terutama oleh badan-badan yang bertanggungjawab dengan keamanan pangan di Indonesia. Adapun beberapa tahapan yang telah dilakukan dalam upaya untuk mempersiapkan PILATOR untuk proses komersialisasi adalah dengan melakukan pendaftaran paten di LPPM Universitas Brawijaya dengan surat pendaftaran paten pada dilihat pada **Lampiran 4**, kemudian mengikuti program lokakarya “Implementasi Produk Teknologi ke Arah Komersial” oleh pihak praktisi, industri dan pemerintah untuk mendapatkan masukan dan saran mengenai potensi komersial dan peluang pemasaran. Sertifikat keikutsertaan dalam program lokakarya dapat dilihat pada **Lampiran 5**. Selain itu, produk PILATOR telah melakukan perhitungan biaya produksi dengan harga jual yang ditetapkan adalah sebesar Rp. 32.000,00 per kemasan yang berisikan 2 buah kertas uji PILATOR dan larutan pengencer PBS. Perhitungan biaya produksi PILATOR dapat dilihat pada **Lampiran 6**.

#### **4.4.4 Publikasi PILATOR**

PILATOR telah dipublikasikan secara ilmiah melalui seminar internasional 1st Young Scientist International 2017 ISBN: 978-602-432-229-8 serta seminar nasional Simposium Nasional Teknologi Pertanian Karya Anak Bangsa 2017 ISBN: 978-602- 74352-1-6 (**Lampiran 7**). Selain telah dipublikasikan secara ilmiah, PILATOR juga telah diliput oleh 2 media televisi nasional yaitu TVRI dan Trans 7 serta beberapa media berita online seperti yang dapat dilihat pada **Lampiran 8**. PILATOR juga turut berpartisipasi pada expo YSIS dan expo SIENTESA (**Lampiran 9**).

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

PILATOR didesain dengan dimensi 14 x 1,4 x 0,8 cm. Kertas uji yang digunakan untuk PILATOR adalah berupa kertas Whatmann #1 dengan ukuran 12 x 0,5 cm dengan besar zona reaksi sebesar 1 x 0,5 cm. PILATOR memiliki 3 zona yaitu zona sampel, zona dan zona hasil. Prinsip kerja PILATOR adalah sampel pada zona sampel akan mengalir menuju zona reaksi dimana terdapat antibodi sekunder yang telah ditag dengan enzim *Alkaline Phosphatase*. Kemudian, sampel dan antigen sekunder mengalir menuju zona hasil dimana telah diimobilisasi antibodi primer. Jika terdapat antigen *Salmonella* pada sampel, maka akan terjadi *sandwich assay* antara antibodi sekunder dengan antibodi primer. Kemudian enzim *Alkaline Phosphatase* pada antibodi sekunder akan bereaksi dengan substrat NBT-BCIP yang telah diletakan pada zona hasil membentuk warna biru keunguan sebagai indikator hasil uji (+).

Hasil pengujian Teknik immobilisasi antibodi primer menggunakan adsorpsi fisik (Kontrol), adsorpsi fisik modifikasi permukaan (Na-Alginat 2% dan CMC 2%) dan kovalen (gluteraldehid 2%) menunjukkan hasil bahwa teknik imobilisasi kovalen menggunakan gluteraldehid 2% memiliki aktivitas pengikatan antibodi yang paling baik dibandingkan teknik adsorpsi fisik modifikasi permukaan (Na-Alginat 2% dan CMC 2%) dan adsorpsi fisik (kontrol) ditandai dengan nilai RGB yang paling rendah pada menit ke-30 yaitu sebesar  $215,31 \pm 1,39$  a.u.

Hasil pengujian immobilisasi antibodi primer menggunakan ikatan primer gluteraldehid dengan konsentrasi 5% memiliki aktivitas pengikatan antibodi yang paling baik dibandingkan dengan konsentrasi lainnya ditandai dengan nilai RGB yang paling rendah pada menit ke-30 yaitu sebesar  $208,65 \pm 0,38$  a.u.

#### 5.2 Saran

Perlu dilakukannya pengujian imobilisasi dengan range konsentrasi yang berbeda dengan yang telah dilakukan pada penelitian ini, perlu dilakukannya pengujian imobilisasi dengan jenis bahan imobilisasi dan metode imobilisasi yang berbeda, serta perlu dilakukannya pengujian performansi biosensor menggunakan indikator performa lain selain imobilisasi antibodi primer.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abcam. 2017. **A Comparison Between Polyclonal and Monoclonal**. Diakses pada 17 Desember 2017. < <http://www.abcam.com/protocols/a-comparison-between-polyclonal-and-monoclonal>>
- Abcam. 2017. **20x PBS buffer with Tween 20 (ab64247)**. Dilihat pada 17 Desember 2017. < <http://www.abcam.com/20x-pbs-buffer-with-tween-20-ab64247.html>>
- Alexa, G., D. Chisalita, and G. Chirita. 1971. **Reaction of Dialdehyde With Functional Groups in Collagen**. Rev. Tech. Ind. Cuir 63:5-14
- Amalia, U. 2013. **Optimasi Polymerase Chain Reaction (PCR) Untuk Deteksi Salmonella spp. Pada Udang Segar**. Skripsi Sarjana: IPB Bogor
- Bangs Laboratories. 2013. **Covalent Coupling**. TechNote 205:1-9
- Barreiros, M; J.P. Aguil, B. Prieto-Simón; C. Sporer, V. Teixeira, and J. Samitier. 2013. **Highly Sensitive Detection of Pathogen *Escherichia coli* O157:H7 by Electrochemical Impedance Spectroscopy**. Biosens. Bioelectron 45:174–180
- Bhunja, A. K. 2008. **Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms And Pathogenesis**. United States of America: Springer Science + Business Media, LLC
- Bodelón, G, S. Mourdikoudis, L. Yate, I. Pastoriza-Santos, J. Pérez-Juste, and L.M. Liz-Mar-zán. 2014. **Nickel Nanoparticle-Doped Paper as A Bioactive Scaffold for Targeted Androbust Immobilization of Functional Proteins**. ACSNano 8(6): 6221–6231
- Bolando, P.F, D.H Santos, M.B.Gonzales-Garcia, and A. Costa. 2007. **Alkaline Phosphatase-Catalyzed Silver Deposition for Electrochemical Detection**. Anal. Chem 79: 5272-5277
- Bolduc, O.R dan J. Masson. 2008. **Monolayers of 3-Mercaptopropyl-Amino Acid to Reduce The Nonspecific Adsorption of Serum Proteins on The Surface of Biosensors**. Langmuir 24:12085–12089
- Bowes, J.H. and C.W. Cater. 1968. **The Interaction of Aldehydes with Collagen**. Biochim. Biophys. Acta 168:341-352
- Braeik, M, K.B. Robani, A. Chouda; B. Mrabet, A. Bakhrouf, A. Maaref; and Nicole J.R. 2012. **An Electrochemical Immunosensor for Detection of Staphylococcus aureus Bacteria Based on Immobilization of**

- Antibodies on Self-Assembled Monolayers-Functionalized Gold Electrode.** Biosensors 2(4):417-426
- Brenner, F.W, R.G. Villar, F.J. Angulo, R. Tauxe and B. Swaminathan. 2000. **Salmonella Nomenclature.** Journal Clinical Microbiology 38(7):2465
- Bryne, B, E. Stack, N. Gilmartin, and R. O’Kennedy. 2009. **Review: Antibody-Based Sensors: Principles, Problems and Potential for Detection of Pathogens and Associated Toxins.** Sensors 9: 4407-4445
- Cao, R. 2015. **A Zero-Step Functionalization on Paper-Based Biosensing Platform for Covalent Biomolecule Immobilization.**Jurnal Sensing and Bio-Sensing Research 6: 13–18
- Center for Disease Control and Prevention (CDC). 2001. **Salmonella enteridis.** Disease Information, Division of Bacterial and Mycotic
- Chaabouni, K; I. Bouaziz, S. Boufi, Botelhodo, A.M. Rego, and Y. Gargouri. 2008. **Physical Immobilization of Rhizopus Oryzae Lipase Onto Cellulose Substrate: Activity and Stability Studies.** Colloids Surf.B:Biointerfaces 66(2):168–177
- Chan, S.K and T.S. Lim. 2016. **A Straw-Housed Paper-based Colorimetric Antibody-Antigen Sensor.** Electronic Supplementary Material (ESI) for Analytical Methods : Royal Society of Chemistry
- Chen, H, F. Liu, F. Qi, K. Foh, and K. Wang. 2014. **Fabrication of Calix[4]arene Derivative Monolayers to Control Orientation of Antibody Immobilization.** Journal of Molecular Science 15(4):5496-5507
- Choi, Y.S; S.R. Hong, Y.M. Lee, K.W. Song, M.H. Park, and Y.S. Nam. 1999. **Study on Gelatin-Containing Artificial Skin: I. Preparation and Characteristics of Novel Gelatin-Alginate Sponge.** Biomaterials 20: 409–417
- Coleman, J. E. 1987. **Phosphate Metabolism and Cellular Regulation.** dalam *Microorganisms*, ed. Gorini, A; Rothman, Silver, Wright, dan Yagil. Washington, DC: Am. Soc. Microbiol hal 127-138
- Credou, J; V. Herve, D. Julie, and B. Thomas. 2013. **A One-Step and Biocompatible Cellulose Functionalization for Covalent Antibody Immobilization on Immunoassay Membranes.** Journal of Material Chemistry B 1: 3277-3286
- Credou,J and T. Berthelot. 2014. **Cellulose: From Biocompatible to Bioactive Material.** J. Mater.Chem B2: 4767–4788

- Crivianu-Gaita, V and M. Thompson. 2015. **Immobilization of Fab' Fragments Onto Substrate Surfaces: A Survey of Methods and Applications.** Biosens. Bioelectron. 70:167
- De La Rica, R; A. Baldi, C. Fernandez-Sanchez, and H. Matsui. 2009. **Selective Detection of Live Pathogens Via Surface-Confined Electric Field Perturbation on Interdigitated Silicon Transducers.** Anal. Chem. 81:3830–3835
- Dungchai, W; O. Chailapakul, and C.S. Henry. 2009. **Electrochemical Detection For Paper-Based Microfluidics.** Anal. Chem 81:5821–5826
- Dweik M; S.R. Cody, S.G. Dastider, Y. Wu, M. Almasri, and S. Barizuddin. 2012. **Specific and Targeted Detection of Viable *Escherichia coli* O157:H7 Using a Sensitive and Reusable Impedance Biosensor with Dose and Time Response Studies.** Talanta 94:84–89
- Edwards,R.A., G.J. Olsen, and S.R. Maloy. 2002. **Comparative Genomics of Closely Related *Salmonellae*.** Trends Microbiol. 10: 94–99
- Es, I; J.D.G. Vieira; and A.C. Amaral. 2015. **Principles, Techniques, and Applications of Biocatalyst Immobilization for Industrial Application.** Appl. Microbiol. Biotechnol. 99: 2065–2082
- Farka, Z, T. Juřík, M. Pastucha, D. Kovář, K. Lacina, and P. Skládal. 2016. **Rapid Immunosensing of *Salmonella typhimurium* Using Electrochemical Impedance Spectroscopy: The Effect of Sample Treatment.** Electroanalysis 28:1–8
- Favus, M.J. 2006. **Primer on The Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism.** Washington, DC: American Society for Bone and Mineral Research
- FDA (Food and Drug Administration).1998. **Bacteriological Analytical Manual, 8th Ed.** Arlington : AOAC International
- Fertah, M, A. Belfkira, E.M. Dahmane, M. Taourirte and F. Brouillette. 2014. **Extraction and Characterization of Sodium Alginate from Moroccan *Laminaria digitata* Brown Seaweed.** Arabian Journal of Chemistry 10 (2): 3707-3714
- Fischer, C; A. Fraiwan, and S. Choi. 2016. **A 3d Paper-Based Enzymatic Fuel Cell For Self-Powered, Low-Cost Glucose Monitoring.** Biosensors and Bioelectronics 79: 193–197

- Fishman, W.H. and T. Stigbrand. 1983. **Human Alkaline Phosphatases**. dalam Proceedings of International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine Annual Meeting, Umea, Sweden, September 16–18. hal. 361–364
- Galanis, E, L.F Wong D.M, Patrick M.E, Binsztein N., Cieslik A, and Chalermchikit T. 2006. **Web-Based Surveillance and Global *Salmonella* Distribution, 2000-2002**. *Emerg.Infect.Dis.* 12: 381–388
- Geissler, A; F. Loyal, M. Biesalski, and K. Zhang. 2014. **Thermo-Responsive Super Hydrophobic Paper Using Nano Structured Cellulose Stearoyl Ester**. *Cellulose* 21 (1): 357–366
- Gonzalez, M.D, M.B. Gonzalez-Garcia and A. Costa-Garcia. 2005. **Immunosensor for *Mycobacterium tuberculosis* on screen-Printed Carbon Electrodes**. *Biosensors and Bioelectronics* 20(10):2035–2043
- Gray, J. T. and P.J Fedorka-Cray. 2002. ***Salmonella*. In Cliver**. Dalam Cliver, D. O. and Riemann, H. P. (Eds.). *Foodborne diseases* hal 55-68. San Diego: Academic Press
- Guard-Petter, J. 2001. **The Chicken, The Egg and *Salmonella enteritidis***. *Enviromental Microbiology* 3:421–430
- Hanes, D. 2003. **Nontyphoid *Salmonella***. Dalam Henegariu, O., Heerema, N. A., Dlouhy, S. R., Vance, G. H dan Vogt, P. H. (Eds.). *International Handbook of Foodborne Pathogens* hal 137-149. New York: Marcel Dekker, Inc
- Heinze, T; T. Liebert, P. Klüfers, and F. Meister. 1999. **Carboxymethylation of Cellulose in Unconventional Media**. *Cellulose* 6(2): 153–165
- Holme, H.K., L. Davidsen, A. Kristiansen, and O. Smidsr. 2008. **Kinetics and Mechanisms of The Depolymerization of Alginate and Chitosan in Aqueous Solution**. *Carbohydrate Polymer* 73: 656–664
- Hopwood, D., C.R. Callen, and M. McCabe. 1970. **The Reactions Between Glutaraldehyde and Various Proteins An Investigation of Their Kinetics**. *Histochem. J.* 2:137-150
- Hosseini, S; F. Ibrahim, I. Djordjevic; H. A. Rothan, R. Yusof; C. Van der Marel, and L.H. Koole. 2014. **Synthesis and Characterization of Methacrylic Microspheres for Biomolecular Recognition: Ultrasensitive Biosensor for Dengue Virus Detection**. *Eur Polym J.* 60, 14–21 (2014).



- Hubbe, M. A; R.A. Venditti, and O.J. Rojas. 2007. **What Happens To Cellulosic Fibers During Papermaking and Recycling? A Review.** BioResources 2(4): 739-788
- Hui, J.Z; S. Tamsen, Y. Song and A. Tsourkas. 2015. **LASIC: Light Activated Site-Specific Conjugation of Native IgGs.** Bioconjugate Chem. 26: 1456
- Isaad, J and A.E. Alkari. 2011. **Colorimetric Sensing of Cyanide Anions in Aqueous Media Based on Functional Surface Modification of Natural Cellulose Materials.** Tetrahedron 67(26): 4939–4947
- Jagadeesan, K.K, S. Kumar, and G. Sumana. 2012. **Application of Conducting Paper For Selective Detection of Troponin.** Electrochem. Commun. 20: 71–74
- Jasson, V, L. Baert, and M. Uyttendaele. 2011. **Detection of Low Numbers of Healthy and Sublethally Injured Salmonella Enterica in Chocolate.** Int. J. Food Microbiol 145: 488–491
- Jose, D; P. Kar; D. Kole, B. Ganguly, W. Thiel; H.N. Ghosh, and A. Das. 2007. **Phenol and Catechol-Based Ruthenium (II) Polypyridyl Complexes as Colorimetric Sensors for Fluoride Ions.** Inorganic Chemistry 46 (14): 5576-5584
- Keller, L. H., D. M. Schifferli, C. E. Benson, S. Aslam, and R. J. Eckroade. 1997. **Invasion of Chicken Reproductive Tissues and Forming Eggs is Not Unique to *Salmonella enteritidis*.** Avian Dis. 41:535–539
- Koyun, A; Esma A; and Yeliz. 2012. **Biosensor and Their Principle, A Roadmap of Biomedical Engineers and Milistone.** Turkey: In Tech
- Kundu, S. 2014. **BiomedRecent Advance In Immunoassay.** Amazon Kindle Direct
- Kusumaningtyas, S dan R. Asmara. 2016. **Identifikasi Kematangan Buah Berdasarkan Warna Menggunakan Metode Jaringan Syaraf Tiruan (JST).** Jurnal Informatika Polinema 2(2):72-75
- Laine, J, T. Lindstrom, G. Nordmark, and G. Risinger. 2002. **Studies on Topochemical Modification of Cellulosic Fibres - Part 2. The Effect of Carboxymethyl Cellulose Attachment on Fibre Swelling and Paper Strength.** Nordic Pulp & Paper Research Journal 17(1): 50-56
- Larsen, B, D.M. Salem, M.A. Sallam, M.M. Mishrikey and A. Beltagy. 2003. **Characterization of The Alginates from Algae Harvested at The Egyptian Red Sea Coast.** Carbohydr Res 338: 2325-2336

- Levinson, W. 2008. **Review of Medical Microbiology and Immunology**. USA: Mc-Graw Hill Education
- Lu, B., M.R. Smyth, and R. O.Kennedy. 1996. **Oriented Immobilization of Antibodies and Its Applications in Immunoassays and Immunosensors**. Analyst 121: 29-32
- Mantzila, A.G; V. Maipa, and M.I. Prodromidis. 2008. **Development of a Faradic Impedimetric Immunosensor for the Detection of Salmonella typhimurium in Milk**. Anal. Chem. 80:1169–1175
- Marliana, H. 2008. **Optimasi Pereaksi Schryver Menjadi Kertas Inddikator untuk Identifikasi Formalin dalam Sampel Makanan**. Skripsi. Jakarta: FMIPA UI
- Martinez, A.W, S.T. Phillips, G.M. Whiteside and E. Carrilho. 2010. **Diagnostics for The Developing World: Microfluidic Paper-Based Analytical Devices**. Anal.Chem. 82, 3-10
- Martinsen, A; Skjak-Braek, and Smidsrod. 1987. **Alginate as Immobilization Material: I. Correlation between Chemical and Physical Properties of Alginate Gel Beads**. Biotechnology and Bioengineering 33: 79-89
- Masson, J.F, T.M. Battaglia, Y.C. Kim, A. Prakash,S. Beaudoin and K.S. Booksh. 2004. **Preparation of Analyte-Sensitive Polymeric Supports For Biochemical Sensors**. Talanta 64: 716–725
- McClelland, M., K. E. Sanderson, J. Spieth, S. W. Clifton, P. Latreille, L. Courtney, S. Porwollik, J. Ali, M. Dante, F. Du, S. Hou, D. Layman, S. Leonard, C. Nguyen, K. Scott, A. Holmes, N. Grewal, E. Mulvaney, E. Ryan, H. Sun, L. Florea, W. Miller, T. Stoneking, M. Nhan, R. Waterston, and R. K. Wilson. 2001. **Complete Genome Sequence of Salmonella enterica Serovar Typhimurium LT2**. Nature 413:852–856
- Menti, J; A.P. Henriques, F.P. Missell, and M. Roesch-Ely. 2016. **Antibody-Based Magneto-Elastic Biosensors: Potential Devices For Detection of Pathogens and Associated Toxins**. Appl. Microbiol. Biotechnol. 100:6149
- Merck. 2017. **Singlepath® Salmonella for Rapid Detection of Salmonella on Food**. Darmstadt: Merck KGaA
- Migneault, I; C. Dartiguenave, M. Bertrand, and K.C. Waldron. 2004. **Glutaraldehyde: Behaviour in Aqueous Solution, Reaction with Protein, and Application to Enzyme Crosslinking**. BioTechniques:790-802

- Munoz-Berbel, X, N. Godino, O. Laczka, E. Baldrich, F. Xavier Munoz, and F. J. Del Campo. 2008. **Impedance-Based Biosensors for Pathogen Detection.** Dalam Zourob; S. Elwary dan A. Turner (Eds.). *Principles of Bacterial Detection: Biosensors, Recognition Receptors and Microsystems*. Springer: 341-376
- Naravaneni, R; and K. Jamil. 2005. **Rapid Detection of Food-Borne Pathogens by Using Molecular Techniques.** Journal of Medical Microbiology 54(1): 51-54
- National Centre for Disease Control (NCDC). 2009. **Food-Borne Diseases.** CD Alert 13(4): 1-12
- Nimni, M.E., D. Cheung, B. Strates, M. Kodama, and K. Sheikh. 1987. **Chemically Modified Collagen: A Natural Biomaterial for Tissue Replacement.** J. Biomed. Mater. Res. 21:741-771
- North, J. 1985. **Immunosensor: Antibody Based Biosensor.** Trend In Biotechnology 3 (7):180-186
- Notoatmodjo. 2002. **Metodologi Penelitian Kesehatan.** Jakarta : PT Rineka Cipta
- Ogi, H; Y. Fukunishi, H. Nagai, K. Okamoto; M. Hirao and M. Nishiyama. 2009. **Nonspecific-Adsorption Behavior of Polyethylenglycol and Bovine Serum Albumin Studied by 55 Mhz Wireless–Electrodeless Quartz Crystal Microbalance.** Biosens. Bioelectron. 24: 3148–3152
- Okuda, K., I. Urabe, Y. Yamada, and H. Okada. 1991. **Reaction of Glutaraldehyde with Amino and Thiol Compounds.** J. Ferment. Bioeng. 71:100-105
- Olerma, H, T. Tujia, J. Leena, J. Susanna, and L. Janne. 2012. **CMC-Modified Cellulose Biointerface for Antibody Conjugation.** Biomacromolecules 13: 1051-1058
- Orelma, H; I. Filpponen, L. Johansson, J. Laine, and O.J. Rojas. 2011. **Modification Of Cellulose Films By Adsorption Of CMC And Chitosan For Controlled Attachment Of Biomolecules.** Biomacromolecules 12(12):4311–4318
- Orive, G; S. Ponce and R.M. Hernandez. 2004. **Cell Encapsulation: Promise and Progress.** Biomaterials 23: 3825–3831
- Ortega, N., M.D Busto, and M. Perez-Mateos. 1998. **Stabilisation of B-Glucosidase Entrapped in Alginate and Polyacrylamide Gels Towards**

- Thermal and Proteolytic Deactivation.** Journal of Chemical Technology and Biotechnology 73 (1): 7-12
- Park, J.S; C.M. Lee; and K.Y. Lee. 2007. **A Surface Plasmon Resonance Biosensor for Detecting *Pseudomonas aeruginosa* Cells with Self-Assembled Chitosan-Alginate Multilayers.** Talanta 72(2): 859-862
- Parkhill, J., G. Dougan, K. D. James, N. R. Thomson, D. Pickard, J. Wain, C. Churcher, K. L. Mungall, S. D. Bentley, M. T. Holden, M. Sebaihia, S. Baker, D. Basham, K. Brooks, T. Chillingworth, P. Connerton, A. Cronin, P. Davis, R. M. Davies, L. Dowd, N. White, J. Farrar, T. Feltwell, N. Hamlin, A. Haque, T. T. Hien, S. Holroyd, K. Jagels, A. Krogh, T. S. Larsen, S. Leather, S. Moule, P. O'Gaora, C. Parry, M. Quail, K. Rutherford, M. Simmonds, J. Skelton, K. Stevens, S. Whitehead, and B. G. Barrell. 2001. **Complete Genome Sequence of A Multiple Drug Resistant *Salmonella enterica* Serovar Typhi CT18.** Nature 413:848–852
- Peters, T.J. 1985. **Serum Albumin.** Advances in Protein Chemistry 37:161–245
- Pires. 2010. **Using Outbreak Data for Source Attribution of Human Salmonellosis and Campylobacteriosis in Europe.** PubMed 7 (11):1351-1361
- Pivetal, J, F.M Pereira, A.I. Barbosa, A.P. Castanheira; N.M. Reis; and A.D. Edward. 2017. **Novel Strategies for Covalent Immobilisation of Antibodies in Telfon-FEP Microfluidic Device.** Electronic Supplementary Material (ESI) for Analyst : Royal Society of Chemistry
- Portillo, F. G. 2000. **Molecular and Cellular Biology of *Salmonella* Pathogenesis.** Dalam Cary, J. W. and Bhatnagar,D. (Eds.). *Microbial foodborne diseases: Mechanisms of Pathogenesis and Toxin Synthesis* hal 3-34. United States of America: Technomic Publishing Company, Inc.
- Prang, P; R. Muller, A. Eljaouhari, K. Heckmann, W. Kunz, T. Webber, C. Faber, M. Vroemen, U. Bogdahn, and N. Weidner. 2006. **The Promotion of Oriented Axonal Regrowth in The Injured Spinal Cord by Alginate-Based Anisotropic Capillary Hydrogels.** Biomaterials 27: 3560–3569
- Public Health England. 2015. **UK Standart for Microbiology Investigation.** Issue no 3 hal 1-23
- Pui, C. F; W. Wong, L.C Chai, E. Nillian, F.M. Ghazali, Y.K. Cheah, Y. Nakaguchi, M. Nishibuchi and S. Radu. 2011. ***Salmonella*: A Foodborne Pathogen.** International Food Research Journal 18:465–473

- Rao, V. K; G. P Rai, G. S Agarwal, and S. Suresh. 2005. **Amperometric Immunosensor for Detection of Antibodies of Salmonella typhi in Patient Serum.** *Anal. Chim. Acta*, 531(2): 28, 173–177
- Romer Lab. 2017. **RapidChek® SELECT™ Salmonella.** Online. Diakses pada 3 November 2011. <<https://www.romerlabs.com/en/analytes/food-pathogens/salmonella-test-kits/>>
- Roy, J.J and E.T Abraham. 2004. **Strategies in Making Cross-Linked Enzyme Crystals.** *Chem. Rev.* 104: 3705–3721
- Sambrook J, E.F. Fritch, and T. Maniatis. 1989. **Molecular Cloning : A Laboratory Manual Volumes 1-3 Second Edition.** Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press
- Santoso, B. 2016. **Indonesia's Growing Appetite for Animal Protein An Overview of Business Models, Opportunities and Strategies.** DBS Group Research: DBS Asian Insight
- Shankaran, D and Norio, M. 2007. **Trends in Interfacial Design for Surface Plasmon Resonance Based Immunoassays.** *Journal of Physics D: Applied Physics* 40:7187-7200
- Sharma, A and M.N Gupta. 2002. **Three Phase Partitioning of Carbohydrate Polymers: Separation and Purification of Alginates.** *Carbohydrate Polymer* volume 48: 391-395
- Shomer, I, A. Avisar, P. Desai, S. Azriel, G. Smollan, N. Belausov, N. Keller, D. Glikman, Y. Maor, A. Peretz, M. McClelland, G. Rahav, and O. Gal-Mor. 2016. **Genetic and Phenotypic Characterization of a Salmonella enterica serovar Enteritidis Emerging Strain with Superior Intra-macrophage Replication Phenotype.** *Front. Microbiol.* 7: 1-10
- Shriver-Lake, L.C. 1998. **Silane-Modified Surfaces for Biomaterial Immobilization.** dalam *Immobilized Biomolecules in Analysis*. Eds.: Cass, T. and Ligler, F.S. New York: Oxford University Press Inc. hal 1-14
- Sigma Aldrich. 2008. **Colorimetric Alkaline Phosphatase and Peroxidase Substrate Detection Systems.** *BioFiles* 3: 4-6
- Sigma Aldrich. 2017. **P4417 SIGMA Phosphate Buffered Saline Tablet.** Diakses pada 17 Desember 2017. <<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/p4417?lang=en&region=ID>>

- Sigma Aldrich. 2017. **Whatman® Qualitative Filter Paper, Grade 1, Circles, Diameter 25 mm, Pack of 100.** Dilihat pada 17 Desember 2017. <<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/z274852?lang=en&region=ID>>
- Steinitz, M. 2000. **Quantitation of The Blocking Effect of Tween 20 and Bovine Serum Albumin in ELISA Microwells.** *Anal. Biochem.* 282:232-238
- Stigsson, V, G. Kloow and U. Germgård. 2006. **The Influence of The Solvent System Used During Manufacturing of CMC.** *Cellulose* 13(6):705–712
- Sunil, S., Desai, J.D. and Surekha, D. 2001. **Immobilization of Yeast Alcohol Dehydrogenase by Entrapment and Covalent Binding to Polymeric Supports.** *Journal of Applied Polymer Science* 82 (5):1299-1305
- Susmel S., R. Toniolo, A. Pizzariello, N. Dossi, and G. Bontempelli. 2005. **A Piezoelectric Immunosensor Based on Antibody Entrapment Within A Non-Totally Rigid Polymeric Film.** *Sensors and Actuators B: Chemical*, 111-112, (11):331-338
- Suwandono, A.M dan Destri. 2005. **Salmonellosis dan Surveillans Demam Tifoid yang Disebabkan Salmonella di Jakarta Utara.** Jakarta: BPOM
- Tarigan. 2011. **Penggunaan Polymerase Chain Reaction Enzyme Linked Oligonucleotide Sorbent Assay (PCR-ELOSA) untuk Deteksi Agen Penyakit.** Bogor : Balai Besar Penelitian Veteriner
- Teunis, P; F. Kasuga, A. Fazil, I. Ogden, O. Rotariu, and N. Strachan. 2010. **Dose-Response Modeling of Salmonella Outbreak Data.** *International Journal of Food Microbiology* 144(2): 243-249
- Thermo Fischer Scientific. 2017. **Antibody Labeling and Immobilization Sites.** Dilihat pada 21 Desember 2017. <<https://www.thermofisher.com/id/en/home/life-science/antibodies/antibodies-learning-center/antibodies-resource-library/antibody-methods/antibody-labeling-immobilization-sites.html#antibody>>
- Thermo Scientific. 2007. **Choosing A Secondary Antibody: A Guide to Fragment Specificity.** USA: Thermo Scientific Inc hal 1-4
- Todd, E. C. 1997. **Epidemiology of Food-Borne Diseases: A Worldwide Review.** *World Health Stat. Q.* 50:30–50
- Torres, M.R, A.P. Sousa, E. Filho, D.F. Melo, J.P. Feitosa, R.C. Paula, and M.G.Lima. 2007. **Extraction and Physicochemical Characterization of Sargassum vulgare Alginate from Brazil.** *Carbohydr Res* 342: 2067-2074

- Trilling, A.K, J. Beekwilder, dan H. Zuilhof. 2013. **Antibody Orientation on Biosensor Surface: A Minireview.** Analyst 138:1619
- Trilling, A.K, T. Hesselink, A. van Houwelingen, J.H. Cordewener, M.A. Jongsma, S. Schoffelen, J.C. van Hest, H. Zuilhof, and J. Beekwilder. 2014. **Orientation of Llama Antibodies Strongly Increases Sensitivity of Biosensors.** Biosens. Bioelectron. 60: 130
- Velusamy, V, K. Arshak, O. Korostynska, K. Oliwa and C. Adley. 2010. **An Overview of Foodborne Pathogen Detection: In the Perspective of Biosensors.** Biotechnol. Adv 28: 232–254
- Villalobos, P, M.I Chavez, Y. Olguin, E. Sanchez, E. Valdes; R. Galindo and M.E. Young. 2012. **The Application of Polymerized Lipid Vesicles as Colorimetric Biosensors for Real-Time Detection of Pathogens in Drinking Water.** Young Electron. J. Biotechnol 15: 1–12
- Wang, J and P.Somasundaran. 2005. **Adsorption and Conformation of Carboxymethyl Cellulose at Solid–Liquid Interfaces Using Spectroscopic, AFM and Allied Techniques.** Journal of Colloid and Interface Science 291(1): 75–83
- Wang, S, L. Ge, X. Song, J. Yu, S. Ge, J. Huang, and F. Zeng. 2012. **Paper-Based Chemiluminescence ELISA: Lab-On-Paper Based on Chitosan Modified Paper Device and Wax-Screen-Printing.** Biosensors and Bioelectronics 31:212-218
- Wang, X, Y. Liu, W. Qiu, and D. Zhu. 2002. **Immobilization of Tetra-Tert-Butylphthalocyanines on Carbon Nanotubes: A First Step Towards The Development of New Nanomaterials.** Journal of Material Chemistry volume 12 (6): 1636-1639
- Welch, N.G, J.A. Scoble, B.W. Muir, and P.J. Pigram. 2017. **Orientation and Characterization of Immobilized Antibodies for Improved Immunoassays (Review).** Biointerphases 12(2):1-13
- Yang, X. H and W.L. Zhu. 2007. **Viscosity Properties of Sodium Carboxymethylcellulose Solutions.** Cellulose 14(5): 409–417
- Yousef, A.E and C. Carlstrom. 2003. **Salmonella.** Dalam Yousef, A.E dan Carlstrom, C. *Food Microbiology: A Laboratory Manual* hal 167-205. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc

## Lampiran 1. Prosedur Penggunaan PILATOR



Prosedur penggunaan PILATOR adalah sebagai berikut:

1. Larutkan sampel pada pelarut PBS yang telah tersedia di dalam kemasan;
2. Aduk sampel hingga rata;
3. Celupkan PILATOR pada sampel;
4. Tunggu 15-20 Menit untuk melihat perubahan warna yang terjadi;
5. Amati hasil yang didapatkan, jika terjadi perubahan warna maka hasil uji positif dan jika tidak terjadi perubahan warna maka hasil uji negatif.



## Lampiran 2. Diagram Alir Persiapan Reagen

### A. Pembuatan Gluteraldehid (2%, 3%, 4%, 5%, dan 6%)

1. Disiapkan Gluteraldehid komersial dengan konsentrasi 25%
2. Diambil 2 $\mu$ l, 3 $\mu$ l, 4 $\mu$ l, 5 $\mu$ l dan 6 $\mu$ l gluteraldehid komersial dengan menggunakan mikropipet 0,5-10 $\mu$ l
3. Dimasukkan kedalam 5 mikrotube 1,5 mL steril yang berbeda
4. Ditambahkan ke masing-masing tube *Phospate Buffered Saline (PBS)* hingga volume total mencapai 25 $\mu$ l pada masing-masing tube
5. Dihomogenisasi
6. Gluteraldehid berbagai konsentrasi siap digunakan

### B. Pembuatan Alginat (2%)

1. Ditimbang alginat sebanyak 0,8 gram
2. Dimasukkan dalam erlenmeyer 100 mL
3. Ditambahkan *aquades* sejumlah 40 mL
4. Diaduk dengan magnetic stirrer suhu 25°C dengan kecepatan 600 rpm hingga homogen
5. Alginat siap digunakan

### C. Pembuatan CMC (2%)

1. Ditimbang CMC sebanyak 0,8 gram
2. Dimasukkan dalam erlenmeyer 100 mL
3. Dilarutkan dalam *aquades* sejumlah 40 mL
4. Diaduk dengan magnetic stirrer suhu 25°C dengan kecepatan 1000 rpm hingga homogen
5. CMC siap digunakan

### D. Pembuatan PBS-T

1. Diambil Tween 20 sebanyak 1 $\mu$ l
2. Dimasukkan kedalam mikrotube 1,5 ml steril
3. Ditambahkan 999 $\mu$ l *Phospate Buffered Saline*
4. Dihomogenkan
5. PBS-T siap digunakan

#### **E. Pembuatan BSA (1%)**

1. Ditimbang BSA sebanyak 10 mg
2. Dimasukkan ke dalam mikrotube 1,5 ml steril
3. Ditambahkan 1 mL *Phospate Buffered Saline*
4. Dihomogenkan hingga larut sempurna
5. BSA siap digunakan

#### **F. Pembuatan Antibodi Primer (10 µg/mL)**

1. Diambil 2µl antibodi anti *Salmonella* (1000 µg/mL)
2. Dimasukkan ke dalam mikrotube 1,5 ml steril
3. Ditambahkan 198µl *Phospate Buffered Saline*
4. Dihomogenkan
6. Antibodi Primer (10 µg/mL) siap digunakan

#### **G. Pembuatan Antibodi Sekunder (200 ng/mL)**

1. Diambil 3µl antibodi *goat anti rabbit igG-AP labeled* (100 µg/mL)
2. Dimasukkan ke dalam mikrotube 1,5 ml steril
3. Ditambahkan 1497µl *Phospate Buffered Saline*
4. Dihomogenkan
5. Antibodi *goat anti rabbit igG-AP labeled* (200 ng/mL)
6. Diambil 100µl Antibodi *goat anti rabbit igG-AP labeled* (200 ng/mL)
7. Dimasukkan ke dalam mikrotube 1,5 ml steril
8. Dicampurkan 2µl antibodi primer (10 µg/mL) ke dalam mikrotube berisi 100µl Antibodi *goat anti rabbit igG-AP labeled* (200 ng/mL)
9. Dihomogenkan dan didiamkan beberapa saat
10. Antibodi sekunder (200 ng/mL) siap digunakan














































### Lampiran 3. Hasil Pengujian Imobilisasi Antibodi Primer
















#### A. Hasil Uji Teknik Imobilisasi

##### 1. Tabel Distribusi Nilai RGB

Jenis	Menit ke-	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-Rata	Stdev
Kovalen (Gluteraldehid 2%)	10	219.61	219.26	219.94	219.60	0.34
	15	218.55	218.53	218.55	218.54	0.01
	20	217.58	218.02	216.58	217.39	0.74
	25	216.79	216.18	215.85	216.27	0.48
	30	216.02	216.25	213.74	215.34	1.39
Adsorpsi Modifikasi Permukaan (Alginat 2%)	10	234.81	234.33	230.30	233.15	2.48
	15	233.91	232.39	229.41	231.90	2.29
	20	233.67	232.30	228.71	231.56	2.56
	25	233.36	232.18	227.93	231.16	2.86
	30	233.02	232.13	226.43	230.53	3.58
Adsorpsi Modifikasi Permukaan (CMC 2%)	10	224.11	217.28	225.07	222.15	4.25
	15	223.12	217.07	224.17	221.45	3.83
	20	223.08	216.63	223.53	221.08	3.86
	25	222.08	216.73	223.19	220.67	3.45
	30	221.79	216.58	223.03	220.47	3.42
Adsorpsi Fisik (Kontrol)	10	236.36	239.72	242.12	239.40	2.89
	15	235.82	239.75	241.74	239.10	3.01
	20	235.77	239.53	241.70	239.00	3.00
	25	235.72	239.27	241.55	238.85	2.94
	30	235.40	238.61	241.38	238.46	2.99

## 2. Hasil Gambar Pengujian

Jenis Reagen	Menit Ke-	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
<b>Kovalen (Gluteraldehid 2%)</b>	10			
	15			
	20			
	25			
	30			
<b>Adsopsi Modifikasi Permukaan (Alginat 2%)</b>	10			
	15			
	20			
	25			
	30			
<b>Adsopsi Fisik (Kontrol)</b>	10			
	15			
	20			
	25			
	30			











































<b>Adsorpsi Modifikasi Permukaan (CMC 2%)</b>	10			
	15			
	20			
	25			
	30			


































**B. Hasil Pengujian Imobilisasi Antibodi Primer Teknik Kovalen Menggunakan Gluteraldehid Berbagai Konsentrasi**

**1. Tabel Distribusi Nilai RGB**

Konsentrasi	Menit ke-	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-Rata	Stdev
2%	10	219.61	219.26	219.94	219.60	0.34
	15	218.55	218.53	218.55	218.54	0.01
	20	217.58	218.02	216.58	217.39	0.74
	25	216.79	216.18	215.85	216.27	0.48
	30	216.02	216.25	213.74	215.34	1.39
3%	10	231.48	225.21	225.32	227.34	3.59
	15	229.92	224.14	224.55	226.20	3.23
	20	228.95	223.33	223.13	225.14	3.30
	25	227.88	222.51	222.17	224.19	3.20
	30	226.22	219.45	219.80	221.82	3.81
4%	10	224.96	225.04	222.47	224.16	1.46
	15	223.75	223.58	219.41	222.25	2.46
	20	222.43	222.18	219.21	221.27	1.79
	25	221.81	221.45	218.74	220.67	1.68
	30	219.58	218.79	217.30	218.56	1.16
5%	10	210.97	215.67	216.15	214.26	2.86
	15	215.77	213.07	214.12	214.32	1.36
	20	209.22	211.93	212.02	211.06	1.59
	25	208.50	210.79	211.09	210.13	1.42
	30	208.43	208.42	209.09	208.65	0.38
6%	10	224.72	224.71	229.07	226.17	2.51
	15	224.32	223.98	226.85	225.05	1.57
	20	223.30	223.06	224.15	223.50	0.57
	25	222.51	222.88	223.83	223.07	0.68
	30	220.08	219.43	222.52	220.68	1.63


## 2. Hasil Gambar Pengujian

Konsentrasi	Menit Ke-	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
2%	10			
	15			
	20			
	25			
	30			
3%	10			
	15			
	20			
	25			
	30			
4%	10			
	15			
	20			
	25			

	30			
5%	10			
	15			
	20			
	25			
	30			
6%	10			
	15			
	20			
	25			
	30			



#### Lampiran 4. Surat Pendaftaran Paten PILATOR

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT  
Jl. Veteran, Malang 65145  
Telp. + 62-341-575824, 575825, 584394; Fax. + 62-341-575825, 575828  
<http://lppm.ub.ac.id> E-mail: [lppm@ub.ac.id](mailto:lppm@ub.ac.id)

---

**SURAT KETERANGAN**  
Nomor: 61.9/UN10.21/TU/2017

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Prof. Dr. Ir. Woro Busono, MS.  
NIP : 195604031981031002  
Jabatan : Ketua LPPM Universitas Brawijaya


Menerangkan bahwa:


NO	NAMA	JABATAN
1	Maria Florencia Puspitasari S.	Mahasiswa Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya
2	Sri Mursidah	Mahasiswa Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya
3	Ani Masruroh	Mahasiswa Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya
4	Rika Anisa Anggraeni	Mahasiswa Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya
5	Yunita Khilyatun Nisak	Mahasiswa Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya

Telah mendaftarkan paten di Sentra HKI Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Brawijaya dengan judul : **"PILATOR: (Rapid Salmonella Detector) Inovasi Detektor yang Cepat, Praktis, dan Akurat Berbasis Colorimetric Biosensor sebagai Upaya Untuk Meningkatkan Keamanan Pangan Indonesia"**

Demikian surat keterangan ini kami buat, untuk digunakan dengan sebaik-baiknya.

Malang, 2 Juni 2017  
Ketua,

  
Prof. Dr. Ir. Woro Busono, MS.  
NIP. 195604031981031002



Lampiran 5. Keikutsertaan dalam Lokakarya



## Lampiran 6. Perhitungan Biaya Pembuatan PILATOR

### • Fix Cost

No	Nama Barang	Jumlah	Satuan	Harga Satuan Rp)	Total (Rp)
1	Sewa Laboratorium	1	Bulan	25,000.00	25,000.00
2	Penyemprot Alkohol	1	Buah	15,000.00	15,000.00
3	Rak Tabung Reaksi	1	Buah	5,000.00	5,000.00
4	Pipet Ukur 1 ml	1	Buah	10,000.00	10,000.00
5	Sewa Refrigerator -40°C	1	Bulan	100,000.00	100,000.00
6	Sewa Mikropipet	3	Bulan	100,000.00	300,000.00
7	Bunsen	1	Buah	27,500.00	27,500.00
8	Tabung Reaksi	20	Buah	5,000.00	100,000.00
9	Sewa Inkubator	1	Buah	210,000.00	210,000.00
10	Kawat Ose	1	Buah	8,500.00	8,500.00
11	Autoklaf	1	bulan	150,000.00	150,000.00
12	Transportasi	1	Bulan	393,000.00	393,000.00
<b>Total</b>					<b>1,344,000.00</b>

### • Variable Cost

No	Nama Barang	Jumlah	Satuan	Harga Satuan Rp)	Total (Rp)
1	Antibodi Anti <i>Salmonella</i>	100	µl	37,000.00	3,700,000.00
2	<i>Goat Anti Rabbit</i>	5	µl	2,700.00	13,500.00
3	PBS	1	Liter	150,000.00	150,000.00
4	BSA	50	mg	550.00	27,500.00
5	Tween 20	2	ml	1,750.00	3,500.00
6	Gluteraldehid 25%	2	ml	3,250.00	7,500.00
7	Kertas Whatmann #1 diameter 11 cm	60	Buah	6,000.00	360,000.00
8	BCIP	5	mL	20,000.00	100,000.00
9	Kultur <i>E.coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Listeria</i>	3	Tabung	85,000.00	255,000.00
10	Tissue	2	Pack	12,500.00	25,000.00
11	Sarung Tangan	2	Pack	30,000.00	60,000.00
12	Masker	2	Pack	22,000.00	44,000.00
13	Plastik Sterilisasi	15	Buah	1,000.00	15,000.00
14	Kapas	1	Pack	12,000.00	12,000.00
15	Kertas Sterilisasi	2	Meter	3,000.00	6,000.00
16	Mikrotube 1,5 mL	50	Buah	1,500.00	75,000.00
17	Mikrotip 10 µl	1	pack	57,000.00	57,000.00
18	Mikrotip 100 µl	100	Buah	200.00	20,000.00
19	Mikrotip 1000 µl	100	Buah	500.00	50,000.00
20	Alkohol 70%	1	Liter	30,000.00	30,000.00
21	Spirtus	1	Liter	25,000.00	25,000.00
22	Kerangka Alat	600	Buah	2,500.00	1,500,000.00
23	Aquades	10	Liter	3,000.00	30,000.00
24	Kemasan Kardus	600	Buah	500.00	300,000.00
25	Biaya lain-lain	1	-	200,000.00	200,000.00
<b>Total</b>					<b>7,066,000.00</b>

$$\begin{aligned}
 \text{Modal Awal} &= \text{Fixed Cost} + \text{Variable Cost} \\
 &= \text{Rp. 1.344.000,00} + \text{Rp. 7.066.000,00} \\
 &= \text{Rp. 8.410.000,00}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{HPP} &= (\text{Fixed Cost} + \text{Variable Cost}) / \text{Kapasitas Produksi per bulan} \\
 &= 8.410.000 / 600 \text{ buah} \\
 &= \text{Rp. 14.016,67}
 \end{aligned}$$

Biaya Produksi per bulan

= Fixed Cost + Variable Cost

= Rp. 8.410.000,00

Hasil Usaha

= Jumlah Produksi x Harga Jual

= 600 buah x Rp. 16.000

= Rp. 9.600.000,00

Keuntungan

= Hasil Usaha – Biaya Produksi

= Rp. 9.600.000 – Rp. 8.410.000

= Rp. 1.190.000,00

Jangka Waktu Pengembalian Modal

= Biaya Produksi: (Keuntungan x Lama Produksi)

= 8.410.000,00: (Rp. 1.190.000,00 x 1 bulan)

= 7,1 bulan

Artinya modal akan kembali setelah dilakukan produksi selama 7,1 bulan

R/C (R = Review/Pendapatan, C=Cost/Pengeluaran)

= Hasil Usaha :Biaya Produksi

= Rp. 9.600.000,00 : Rp. 8.410.000,00

= 1,14

Artinya, setiap satu rupiah biaya yang dikeluarkan untuk produksi menghasilkan penerimaan sebesar 1,14 rupiah.

Break Event Point Unit

= Modal Awal/ (Harga Jual-HPP)

= Rp. 8.410.000,00/ (Rp.16.000,00-Rp.14.016,67)

= 4240,3 = 4241 buah

Break Event Point Keuangan

= BEP Unit x Harga Jual

= 4241 buah x Rp. 16.000,00

= Rp. 67.856.000,00

Artinya, akan terjadi balik modal setelah mendapatkan omzet sebesar Rp. 67.856.000,00 atau dengan kata lain menjual PILATOR sebanyak 4240 buah.

## Lampiran 7. Publikasi Ilmiah PILATOR

### RAPID SALMONELLA DETECTOR TO MAINTAIN FOOD SAFETY

Maria Florencia Puspitasari Schonherr<sup>1</sup>, Sri Mursidah<sup>2</sup>, Ani Masruroh<sup>3</sup>, Rika Anisa Anggraeni<sup>4</sup>, Yunita Khilyatun Nisak<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Agricultural Technology, Brawijaya University, Malang

<sup>2</sup>Soonherr@gmail.com

<sup>3</sup>135100300111020@mail.ub.ac.id

<sup>4</sup>Animasurroh7@gmail.com

<sup>5</sup>Rikanisa.rika@gmail.com

<sup>6</sup>Yunitakn@gmail.com

#### Abstract

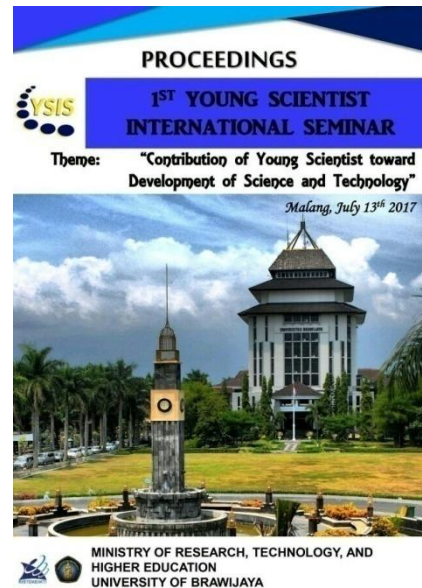
*Salmonella* is pathogenic microorganism that commonly cause foodborne disease called *Salmonellosis*. Based on report, there are 600.000 death cases every year caused by *Salmonellosis* with more than 44% *Salmonellosis* cases involved eggs consumption. Based on that situation, we need innovation to detect the present of *Salmonella* at food products especially eggs to reduce *Salmonellosis* cases that is more rapid than conventional method.

This study aim to determine Limit of Quantitation, time detection, linearity, selectivity and expired date of Rapid *Salmonella* Detector.

Limit of Quantitation is determined by using Optical Density from diluted series of *Salmonella* culture. Time detection is determined by measure time when sampel is dropped to sampel zone until color started to developed. Linearity is determined by measure RGB value of positif testing result. Selectivity is determined by testing Rapid *Salmonella* Detector using sterile sampel and *E.coli* culture, and expired date is determine by testing detector that already being made for 2 weeks to check the performance of that detector compared to detector that just being made.

The test results showed that Limit of Quantitation of this detector is  $3,8 \times 10^3$  CFU/μl, time detection is 30 minutes, linearity showed result that color intensity that being developed is proportional with concentration of microbe present on sampel that being test. Selectivity test show that this detector only can developed color if there *Salmonella* presents and this detector is have good detection performance around 1-2 weeks after being made.

**Keywords:** Immunosensor, *Salmonella*, Food Safety



### PILATOR, DETEKTOR SALMONELLA YANG CEPAT, DAN AKURAT BERBASIS COLORIMETRIC BIOSENSOR

#### RAPID SALMONELLA DETECTOR, INOVATION THAT FAST AND PRECISE BASED ON COLORIMETRIC BIOSENSOR

Maria Florencia Puspitasari Schonherr<sup>1</sup>, Sri Mursidah<sup>2</sup>, Ani Masruroh<sup>3</sup>, Rika Anisa Anggraeni<sup>4</sup>, Yunita Khilyatun Nisak<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Dept. Agricultural Product Technology - Faculty of Agricultural Technology - Universitas Brawijaya

<sup>2</sup>Dept Agricultural Industry Technology - Faculty of Agricultural Technology - Universitas Brawijaya

#### ABSTRAK

Keracunan pangan dapat disebabkan oleh makanan yang terkontaminasi bakteri patogen. Salah satu bakteri patogen yang sering menyebabkan keracunan pangan ialah *Salmonella*. Bakteri *Salmonella* menjadi penyebab dari 16,6 juta kasus keracunan dan 600.000 kasus kematian di seluruh dunia tiap tahunnya. Lebih dari 44% penyakit *Salmonellosis* disebabkan karena konsumsi telur. Metode pendeteksian yang ada selama ini memerlukan waktu yang lama serta peralatan dan bahan yang banyak sehingga dibutuhkan sebuah alat pendeteksian yang lebih cepat dan praktis. Rapid *Salmonella* Detector didesain khusus untuk mendeteksi *salmonella* pada telur menggunakan prinsip immunosensor yaitu biosensor yang menggunakan interaksi antigen-antibodi. Prinsip Kerja Rapid *Salmonella* Detector adalah antigen spesifik pada *Salmonella* akan berikatan dengan antibodi sekunder ber-tag alkaline phosphatase yang telah dimodifikasi di kertas nitrocellulose, kemudian antibodi yang membawa antigen akan merambat dan memasuki zona hasil dan bereaksi dengan antibodi primer yang dengan penambahan substrat BCIP akan membentuk pola berwarna biru yang dapat dilihat secara langsung. Melalui teknologi ini, diharapkan dapat membantu masyarakat dan pemerintah dalam upaya menjaga dan meningkatkan keamanan pangan terutama di Indonesia

Kata kunci: *Salmonella*, Telur, Biosensor, Immunosensor





## Lampiran 8. Publikasi Media PILATOR

### A. Stasiun Televisi

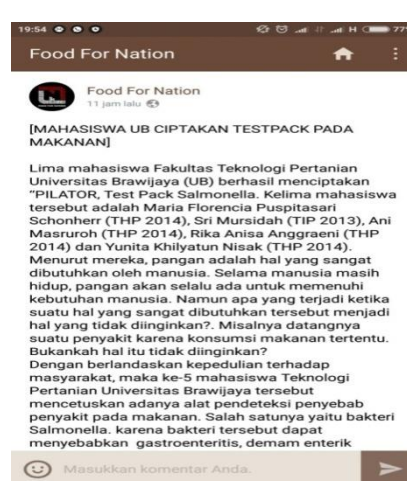


**LIPUTAN DENGAN TVRI**



**LIPUTAN DENGAN TRANS7**

### B. Media Online





**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**  
 Fakultas Teknologi Pertanian  
 — Universitas Brawijaya

[Home](#)
[Profil](#)
[Pendidikan](#)
[Penelitian dan Pengabdian](#)
[Kemahasiswaan dan Alumni](#)
[SPM](#)

[Home » News » PILATOR, Test Pack Salmonella Karya Mahasiswa FTP](#)

**BAHASA**

- Indonesia
- English

**KATEGORI**

- Kegiatan
- Links
- News
- Pengumuman
- Uncategorized

**UB LINK**

- ABSEN PERKULIAHAN
- Akademik Pasca Sarjana
- Daftar Nilai
- E-Complaint
- File Server FTPUB

## PILATOR, Test Pack Salmonella Karya Mahasiswa FTP

Ditulis pada tanggal 17 Mei 2017, oleh Dyah Susahanty, pada kategori **News**

Jika mendengar "test pack" umumnya yang terbayang adalah pendeteksi kehamilan. Namun, kali ini kelima mahasiswa Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya berhasil menciptakan "PILATOR, Test Pack Salmonella". Kelima mahasiswa tersebut adalah Maria Florencia Puspitasari Schonehr (THP 2014), Sri Mursida Masuroh (THP 2014), Rika Anisa Anggraeni (THP 2014) dan Yunita Khilijayun Nisak (THP 2014).

Pangan merupakan salah satu kebutuhan yang sangat penting dalam kehidupan manusia. Tidak dipungkiri bahwa pangan dibutuhkan oleh seluruh makhluk hidup di dunia. Tidak ada satu pun makhluk hidup yang tidak memerlukan makanan. Namun, tidak menutup kemungkinan bahwa penyakit dapat datang kapan saja dan darimana saja. Salah satunya yaitu dari makanan itu sendiri. Penyakit yang disebabkan oleh makanan biasa disebut dengan foodborne disease. Dimana penyakit tersebut disebabkan karena adanya bakteri patogen pada makanan, dan kemudian dikonsumsi, sehingga menyebabkan penyakit yang mengganggu kesehatan tubuh manusia. Salah satu bakteri yang acap kali menjadi penyebab kasus foodborne disease adalah Salmonella. Salmonella dapat menyebabkan beberapa gejala, diantaranya gastroenteritis, demam enterik seperti demam tifoid dan demam paratifoid.

Mahasiswa Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya yang terdiri dari Maria Florencia Puspitasari Schonehr (THP 2014), Sri Mursida (THP 2013), Ani Masuroh (THP 2014), Rika Anisa Anggraeni (THP 2014), dan Yunita Khilijayun Nisak (THP/2014) menciptakan inovasi teknologi terbaru untuk mendeteksi adanya Salmonella pada bahan pangan. Teknologi ini dikenal dengan nama PILATOR (Rapid Salmonella Detector). Teknologi ini memanfaatkan prinsip Biosensor dimana hasil uji positif akan menimbulkan warna biru, sedangkan jika hasil uji negatif tidak akan terjadi perubahan warna. Menurut Maria, "teknologi ini

**OKEZONE**

[News](#)
[Finance](#)
[Lifestyle](#)
[Celebrity](#)
[Bola](#)
[Sports](#)
[Techno](#)
[Autos](#)
[Ruang Anda](#)
[Foto](#)
[Video](#)

[Home](#)
[PESAN MEJA](#)
[NGOBROL](#)
[OKZ BINGITZ](#)
[SOSIALITA](#)
[KOCAR](#)
[JUAL BELI](#)
[KOLABORASI](#)

[Join](#)
[Tour](#)

## Mahasiswa UB Ciptakan Alat Praktis Pendeteksi Salmonella

Pangan merupakan salah satu kebutuhan yang sangat penting dan utama untuk kehidupan manusia. Tidak dipungkiri bahwa pangan dibutuhkan oleh seluruh makhluk hidup di dunia. Tidak ada satu pun makhluk hidup yang tidak memerlukan makanan. Namun, tidak menutup kemungkinan bahwa penyakit dapat datang kapan saja dan darimana saja. Salah satunya yaitu dari makanan itu sendiri. Penyakit yang disebabkan oleh makanan biasa disebut dengan foodborne disease. Dimana penyakit tersebut disebabkan karena adanya bakteri patogen pada makanan, dan kemudian dikonsumsi, sehingga menyebabkan penyakit yang mengganggu kesehatan tubuh manusia. Salah satu bakteri yang acap kali menjadi penyebab kasus foodborne disease adalah Salmonella. Salmonella dapat menyebabkan beberapa gejala, diantaranya gastroenteritis, demam enterik seperti demam tifoid dan demam paratifoid.

Mahasiswa Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya yang terdiri dari Maria Florencia Puspitasari Schonehr (THP 2014), Sri Mursida (THP 2013), Ani Masuroh (THP 2014), Rika Anisa Anggraeni (THP 2014), dan Yunita Khilijayun Nisak (THP/2014) menciptakan inovasi teknologi terbaru untuk mendeteksi adanya Salmonella pada bahan pangan. Teknologi ini dikenal dengan nama PILATOR (Rapid Salmonella Detector). Teknologi ini memanfaatkan prinsip Biosensor dimana hasil uji positif akan menimbulkan warna biru, sedangkan jika hasil uji negatif tidak akan terjadi perubahan warna. Menurut Maria, "teknologi ini



[Home](#)
[Sahabat RPK](#)

## Mahasiswa Brawijaya Ciptakan Pendeteksi Bakteri Salmonella

Posted on: May 25, 2017, By: Argopandoyo Tri Hanggono



Mahasiswa Fakultas Teknologi Pertanian atau FTP Universitas Brawijaya, Malang berhasil menciptakan alat pendeteksi bakteri Salmonella dalam kandungan bahan makanan yang diberi nama Pilator. Menurut salah seorang anggota tim penemu Pilator FTP UB, Maria Florencia Puspitasari Schonehr melalui situs pemberitaan ANTARA hari Kamis 25 Mei 2017 yang lalu, di Jawa Timur, sebagaimana test pack kehamilan, detektor bakteri Salmonella karya mahasiswa FTP ini juga menerapkan prinsip biosensor.

Prinsip yang mereka gunakan sama dengan test pack kehamilan, "Hanya saja jika test pack kehamilan menunjukkan hasil berbentuk garis," begitu kata Maria, "Alat kami ini menunjukkan perubahan warna," lanjutnya menguraikan. Situs web beralamat www.antara.com menambahkan bahwa penggunaan Pilator ini tidak memerlukan pengujian yang rumit dan tanpa menggunakan alat mahal juga. Hanya dengan meneteskan sampel maka dengan sendirinya akan terdeteksi apakah pada bahan pangan tersebut mengandung Salmonella atau tidak.

Sekali pun sebegitu sederhana, hasil penelitian laboratorium menunjukkan bahwa Pilator terbukti cepat dan akurat. Hasil pernyataan tersebut tentunya setelah melalui uji selektivitas, uji LOD, dan uji linieritas. "Kami optimists alat ini bermanfaat di masyarakat," begitu kata Maria. Pilator yang berbahan dasar kertas saring ukuran 5 x 3 x 1 cm ini, bisa diblansir ulang di dalam air. Ummunya.



## Pilator, Alat Pendeteksi Bakteri Salmonella

May 27, 2017

[f](#)
[t](#)
[g+](#)
[p](#)

[Suka 1](#)
[Tweet](#)



Tim Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang menciptakan alat pendeteksi bakteri Salmonella. (Foto: Istimewa/Youngsters.id)



[Home](#)
[Regional](#)
[Surabaya](#)

## Test Pack Salmonella, Pengecek Bakteri Berbahaya dalam Sekejap

Oleh [Liputan6.com](#) pada 26 Mei 2017, 14:51 WIB

**Liputan6.com, Malang** - Mahasiswa Fakultas Teknologi Pertanian (FTP) Universitas Brawijaya (UB) Malang menciptakan alat



[HOME](#)
[INDONESIAKU](#)
[PARIWISATA](#)
[ANAK BANGSA](#)
[KOMUNITAS](#)

## Mahasiswa UB Ciptakan Alat Praktis Pendeteksi Salmonella

By [Adnan Qesri](#) - 30/05/2017

[Share on Facebook](#)
[Tweet on Twitter](#)
[G+](#)
[p](#)



MALANG / KABAR MALANG

## Mahasiswa UB temukan test pack pendeteksi bakteri di makanan

Lima mahasiswa Universitas Brawijaya (UB) Malang menemukan alat yang serupa test pack yang dapat mendeteksi bakteri salmonella di makanan.



### TERPOPULER

- 1 Usai hadapi PS TNI, Arema F langsung bersiap jamu Sriwi FC

### Terpopuler

- 1 Hartikan Kasus Kaesang, Polisi Tak Takut Disebut Bela Anak Jokowi
- 2 Menteri Budi Karya Keluarkan Edaran, Minta Petugas Bandara Sopan
- 3 Tiga Provinsi Alternatif Calon Ibu Kota Negara
- 4 Kasus E-KTP, Marzuki Ale Menanyakan Agama Andi Narogong
- 5 20 Proyek Strategis Nasional Selesai Dibangun

## Mahasiswa Brawijaya Kembangkan Alat Pendeteksi Bakteri Salmonela

JUMAT, 26 MEI 2017 | 13:41 WIB



KARYA BANGSA / Sains & Teknologi

## Mahasiswa UB Ciptakan Alat Praktis Pendeteksi Salmonella

 **inggrida wulansari**  
Jumat, 19 Mei 2017 09:10 WIB

0 Komentar

3 sebaran

 Connected to Wi-Fi network Andong3c.



## Lampiran 9. Keikutsertaan dalam Expo



## Lampiran 10. Dokumentasi Kegiatan



Diskusi Kelompok



Pembelian antibodi



Pembelian Bahan



Konsultasi Dengan Dosen Pembimbing



Peminjaman Laboratorium



Pelatihan Uji di Laboratorium



Tahap Persiapan antibodi



Tahap Persiapan Reagen



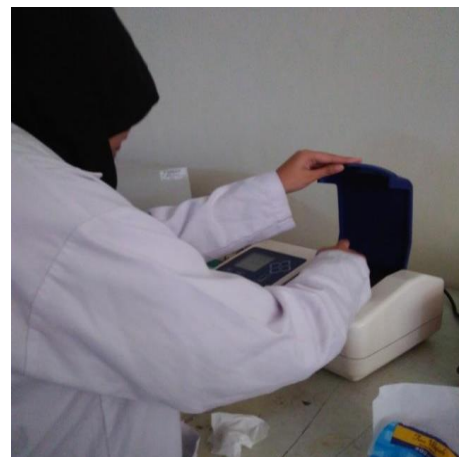
Tahap Pembuatan Biosensor



Alat PILATOR



Persiapan Pengujian



Proses Pengujian